

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有權機關  
國際事務局



(43) 国際公開日  
2005年7月14日 (14.07.2005)

PCT

(10) 国際公開番号  
**WO 2005/064339 A1**

(51) 國際特許分類<sup>7</sup>: G01N 33/561, C12M 1/00, C12N 15/09, C12Q 1/68, G01N 27/447, 33/53, 37/00

(72) 発明者; および

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/019508

(AMANO, Yoshinori). 福本 央明 (HASHIMOTO, Hideaki). 西田 肇 (NISHIDA, Takeshi). 森 一芳 (MORI, Kazuyoshi). 清水 隆次 (SHIMIZU, Ryuji). 安藤 寛 (ANDOU, Hiroshi). 中西 謙治 (NAKANISHI, Kenji). 柳原 直樹 (YANAGIHARA, Naoki). 林 美穂 (HAYASHI, Miho).

(22) 国際出願日: 2004年12月27日(27.12.2004)

(MORI, Kazuyoshi). 清水 隆次 (SHIMIZU, Ryuji). 安藤 寛 (ANDOU, Hiroshi). 中西 謙治 (NAKANISHI, Kenji). 柳原 直樹 (YANAGIHARA, Naoki). 林 美穂

## (25) 國際出願の言語: 日本語

安藤 寛 (ANDOU, Hiroshi). 中西 謙治 (NAKANISHI, Kenji). 柳原 直樹 (YANAGIHARA, Naoki). 林 美穂 (HAYASHI, Miho).

## (26) 国際公開の言語: 日本語

(74) 代理人: 早瀬 壽一 (HAYASE, Kenichi); 〒5320003 大阪府大阪市淀川区實籠2丁目4番22号 二十七

(30) 優先権データ:

(74) 代理人: 早瀬 壽一 (HAYASE, Kenichi); 〒5320003 大阪府大阪市淀川区宮原3丁目4番30号 ニッセイ新大阪ビル13階 早瀬特許事務所 Osaka (JP).

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 松下電

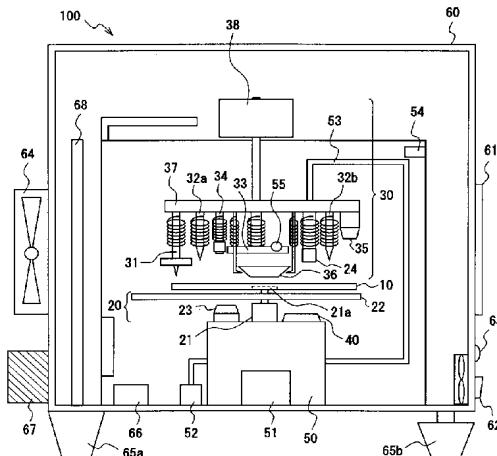
(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,

器産業株式会社 (MATSUMIYA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD.) [JP/JP]: 〒571-8501 大阪府門真市大

可能). AE, AC, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BC, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, 等。

**(54) Title:** BIOLOGICAL SAMPLE DISCRIMINATING DEVICE, BIOLOGICAL SAMPLE DISCRIMINATING METHOD, AND BIOLOGICAL SAMPLE DISCRIMINATING PLATE

(54) 発明の名称: 生体サンプル判別装置、生体サンプル判別方法、及び生体サンプル判別用プレート



**(57) Abstract:** A plate (10), formed with a flow path pattern (110) having a first flow path (116) to which a buffer is injected, and a second flow path (117) including a quantifying unit (117a) in part of the flow path that shares the first flow path and the part of the flow path and holds a constant amount of a biological sample and having the portion of a flow path including the quantifying unit being injected with a biological sample, is rotated at high speed by a filling unit (20) to fill the first flow path with a buffer, and then the second flow path is pressurized by a discriminating unit (30) to fill the second flow path with a biological sample and add a constant amount of a biological sample into a buffer. Accordingly, an accurate and short-time discrimination result can be obtained without the need of a troublesome preparation job when a biological sample is to be discriminated.

(57) 要約：緩衝剤が注入される第1の流路（116）と、その流路の一部に、前記第1の流路とその一部の流路を共通とし、生体サンプルを一定量保持する定量部（117a）を含み、該定量部を含む流路に生体サンプルが注入される第2の流路（117）と、を有する流路パターン（110）が形成されたプレート（10）

/ 続葉有 /



ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),

OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 國際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明 細 書

## 生体サンプル判別装置、生体サンプル判別方法、及び生体サンプル判別用プレート

## 技術分野

[0001] 本発明は、DNAやタンパクその他の生体サンプルを緩衝剤中で移動させ、生体サンプルを判別する生体サンプル判別装置、生体サンプル判別方法、及び生体サンプル判別用プレートに関する。

## 背景技術

[0002] 一般的な生体サンプルを考えた場合、大きくはDNAとタンパクが存在している。そして、近年、分子生物学の急速な進展によって、様々な疾患において遺伝子の関与がかなり正確に理解されるようになり、遺伝子をターゲットにした医療に注目が集まるようになってきている。

[0003] DNAに関しては、現在SNPs (single nucleotide polymorphismの略で「1塩基多型」と一般に訳されており、遺伝子における1暗号(1塩基)の違いの総称である。)が注目されている。その理由としては、SNPsの分類により、多くの疾患に対する罹患率や各個人の薬剤に対する効果や感受性を予測でき、さらには、地球上に親子兄弟といえども全く同じSNPsを持つ人間は絶対に存在しないことから個人の完全な特定ができると考えられているからである。

[0004] 現在SNPsを調べる方法としては、DNAの塩基配列を端から直接読んでいくシーケンシング(塩基配列の決定)が最も一般的に用いられている。そして、前記シーケンシングを行う方法としては、いくつかの報告があるが、もっとも一般的に行われているのは、ジデオキシシーケリング(Sanger法)である。なお、シーケンシングは、このSanger法を含め何れの方法においても、分離能の高い変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動か、キャピラリー電気泳動によって1塩基長の長さの違いを分離・識別する技術が基になって成り立っている。そして、このようなシーケンシング法によるSNPsの分類は、ターゲットとする遺伝子を単離した後、増幅・精製し、遺伝子の塩基配列決定法(装置)を用いて、目的遺伝子の塩基配列を読むことによって行なうものであるた

め、実験に膨大な作業量と時間、さらには多大のランニングコストを要し、またその際に使用する塩基配列決定のための自動化装置は、非常に高価で、大きなスペースを占有し、高価な試薬を大量に必要とするという問題を有している。

[0005] こうした問題点は、アフィニティリガンドキャピラリー電気泳動によってDNAを分離する方法を用いればほぼ解決できる。アフィニティリガンドキャピラリー電気泳動は、分子間親和力、とくに生態系における特異的親和力(酵素と基質、抗原と抗体の親和力等)を利用して分離に特異性を持たせるものであり、具体的には、キャピラリー管中の泳動溶液に、相互作用する二成分のうちの一方を添加しておき、他方の成分を電気泳動させると、試料混合物中で相互作用する分子種だけが移動速度に変化を生じることに着目して分析を行うものである(例えば、特許文献1参照)。

[0006] ここで、従来のアフィニティリガンドキャピラリー電気泳動では、塩基配列を特異的に認識するアフィニティリガンドとして、被検体DNAの塩基配列と相補的関係の1本鎖を使うが、ポリヌクレオチドを成分とするアフィニティリガンドは負電荷を有しているため、電圧を印加すると、このアフィニティリガンドがキャピラリー外に流出してしまう。これを防ぐため、従来では、アフィニティリガンドである、前記被検体DNAの塩基配列と相補的関係の1本鎖を、キャピラリー内に固定化している。そして、固定化の方法としては、ビニル化DNAをポリアクリルアミドと共に重合し、それをキャピラリー内壁に共有結合的に固定化するものが提案されている。これにより、前記被検体DNAは、アフィニティリガンドである固定的オリゴヌクレオチドと強く相互作用してキャピラリー内に吸着され、一方ノイズDNAは該固定的オリゴヌクレオチドに吸着されずキャピラリー外に流出され、この結果、前記被検体DNAを検出することが可能となる(特許文献1参照)。

[0007] しかしながら、この方法では、アフィニティリガンドがキャピラリー内壁にしかコーティングできないので、アフィニティリガンドと試料との相互作用が壁面近傍に限られ、測定が難しく、且つ測定精度が悪くなるという問題がある。

[0008] そこで、本出願人は、アフィニティリガンドと試料との相互作用が壁面近傍に限られないように、該アフィニティリガンドをキャピラリー内で擬似的に固定する方法を開発した。これは、例えば、それぞれに電極を配置した第1容器と第2容器間を、リニアポリ

マーとDNA結合制御剤とを含む緩衝液を充たしたキャピラリー管で連絡し、次いで、このキャピラリー管の緩衝液の中に、該DNA試料に含まれる検出対象である目的DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートを充填した後、続いて被検体であるDNA試料を充填し、その後、両電極間に電圧を印加して、キャピラリー管内の被検体DNA試料を電気泳動させることで、該DNA試料を分離する遺伝子診断装置と遺伝子診断方法を提案している(特許文献2参照)。

[0009] 以下、アフィニティリガンドをキャピラリー内で擬似的に固定する方法について説明すると、DNAは二重鎖を形成するものと一重鎖を形成するものとが存在するが、DNAのもつA, T, C, G4つの塩基は互いにAとT、GとCが結合し易くなっているが、DNAの二重鎖においてもA-T, G-Cで対をなしている。従って、一方のDNAが5'-ATCGCGT-3' と配列されている場合、他方のDNAは3'-TAGCGCA-5' という塩基配列をもっている。

[0010] DNAサンプルを分離する分離用DNAコンジュゲートは、前述したようなDNAの相補的関係を利用するため、該分離用DNAコンジュゲートのDNA部分に、DNAサンプルのミュータントDNAと相補的関係をもつDNA配列を与えていた。例えば、DNAサンプルの検出対象である目的DNAであるミュータントDNAのDNA配列が5'-ATCGCGT-3'を含み、ワイルドDNAのDNA配列が5'-ATCACGT-3'を含む場合、下線で示した部分でミュータントDNAとワイルドDNAの塩基が異なる。このとき、分離用DNAコンジュゲートのDNA部分の配列を3'-TAGCGCA-5' とすると、ワイルドDNAは下線部においてDNAコンジュゲートと相補的ではなくなる。これにより、全体の結合力はミュータントDNAの方がワイルドDNAより1塩基分大きくなり、電気泳動時にミュータントDNAの方がワイルドDNAより遅延して泳動される。

[0011] DNAサンプルは血液などから、細胞を破壊してDNAを抽出し、PCRなどによって目的のDNA配列を含む部分を増幅する。このとき、所定の塩基数にして増幅すると相補的配列を持つDNAコンジュゲートの塩基数も決定できる。

[0012] 前述した方法によれば、負に帯電した分離用DNAコンジュゲートとDNA試料とを、電気泳動で第2容器から第1容器へ移動させる際に、アフィニティリガンドと被DNA

検体との相互作用が壁面近傍に限られないように擬似的に固定し、そのDNA試料の移動速度差から、該ワイルドDNAとミュータントDNAとを分離することができ、この結果、SNPsの遺伝子異常を短時間、且つ簡単、正確に判別することができる。

[0013] 一方、タンパク質は、細胞、組織、生体液中に存在し、生体活動の調節、細胞へのエネルギー供給、重要な物質の合成、生物構造体の維持、さらには細胞間でのコミュニケーションや細胞内情報伝達に関与している。現在では、タンパク質が様々な環境や、相互作用する他のタンパク質の存在、タンパク質が受けた修飾の程度や種類に応じて、複数の機能を有することが明らかになってきている。

[0014] ここで、L-アミノ酸が多数連結(重合)してできた高分子化合物がタンパク質であり、生体の重要な構成成分のひとつである。このアミノ酸の配列をタンパク質の一次構造とよぶが、この配列は遺伝子(DNA)の配列により決定される。詳細には、3つの塩基配列により、1つのアミノ酸が指定される。ペプチド結合してタンパク質の構成成分となった単位アミノ酸部分(—NH—CH(—R—)CO—)をアミノ酸残基と呼ぶが、それぞれのRによってその性質が異なる。この残基の相互作用によって $\alpha$ ヘリックス(らせん)構造や $\beta$ シート構造などの二次構造をとり、さらにはタンパク質全体としての三次構造をとることになる。タンパク質の機能は、前記三次構造(立体構造)によって決定される。これは、同じアミノ酸の配列からなるタンパク質でも、立体構造(畳まれ方)によって機能が変わることである。たとえば、BSEの原因となるプリオントンは、正常なプリオントンとは立体構造が違うだけである。現在タンパク質の立体構造と機能についての研究が進められているが、いざればほしい機能にあわせてタンパク質の立体構造を設計し、合成できるようになるだろうと考えられている。

[0015] タンパク質は、20種類のアミノ酸が遺伝子の指示(配列情報)により順番につながることでつくられており、その種類は数千万種と言われるが、その遺伝子の配列がわかれれば、どのアミノ酸がどういう順番でつながってできているかの情報を得ることができる。生物の遺伝子(ゲノム)から作られるタンパク質の集合はプロテオームと呼ばれるが、ヒトゲノムの塩基配列解読が終わった今、プロテオームの解析が盛んに進められている。

[0016] このようなタンパク質の機能解析研究としては、同定やキャラクタリゼーションのみな

らず、生化学アッセイやタンパク質間相互作用研究、タンパク質ネットワーク、または細胞内外のシグナリング解明なども行っていく必要がある。このタンパク質機能の研究には、多方面の技術が使用され、酵素アッセイ、酵母two-hybridアッセイ、クロマトグラフィーによる精製、情報ツールとデータベース等があるが、特に、電気泳動によるたんぱく質の判別は重要な手法である。そして、電気泳動のように、キャピラリー管中のサンプル、分析物、緩衝剤、及び試薬等の液体を移動させた際に得られる輸送反応を検出して、該サンプルの分析、判別、判定等を行う場合の前記液体の輸送及び方向付けに関しては、さまざまな報告がある(例えば、特許文献3～特許文献6)。

特許文献1:特開平7-311198号公報

特許文献2:特開2002-340859号公報

特許文献3:特表2000-513813号公報

特許文献4:特表2001-523341号公報

特許文献5:特表2000-514928号公報

特許文献6:特開2003-28883号公報

## 発明の開示

### 発明が解決しようとする課題

[0017] しかし、前述した特許文献2の遺伝子診断装置と診断方法においては、リニアポリマーとDNA結合制御剤とを含む緩衝液を充たしたキャピラリー管に、分離用DNAコンジュゲートとDNA試料とを充填する必要がある。このように、キャピラリー管1本1本に、分離用DNAコンジュゲートとDNA試料を充填するのは面倒な作業であり、また分離用DNAコンジュゲートとDNA試料を充填する際に、それらの量がキャピラリー管間で異なるれば、測定結果にも影響が及ぼされる可能性があった。

[0018] さらに、試料の分離を行うのに、例えば特許文献5、6に記載の方法では、複数のキャピラリーチャンネルを交差させ、且つ少なくとも3つ電極を設けて、該少なくとも3つ設けられた電極のうちの2つの電極に印加して、前記交差部を通して前記試料を移動させているが、この方法では、流路が交差していることから、試料を電気泳動させる際にうまく泳動しない可能性があり、正確な測定結果が得られないという問題がある。また、例えば特許文献3、4に記載の方法では、プラットホームに微細チャンネルを埋

設し、該プラットホームの回転速度を変化させることで、該回転から生じる向心力を変化させて試料を移動させているが、この方法では、試料を向心方向にしか移動させることができないという問題に加え、該微小チャンネルの形状がかなり複雑であるという問題もある。

[0019] 本発明は、流路に充填された緩衝剤中で生体サンプルを移動させ、該生体サンプルの判別を行う時に、煩雑な準備作業が不要で、短時間で正確な検出結果が得られる、小型で軽量、且つ安価な生体サンプル判別装置、生体サンプル判別方法、及び前記生体サンプル判別装置で使用する生体サンプル判別用プレートを提供することを目的とする。

### 課題を解決するための手段

[0020] 前記課題を解決するために、本発明の請求項1に記載の生体サンプル判別装置は、緩衝剤が流入される第1の流路と、その流路の一部に、前記第1の流路とその一部の流路を共通とし、一定量の生体サンプルを保持する定量部を含み、該定量部を含む流路に前記生体サンプルが流入される第2の流路と、を有する流路パターンが形成されたプレートを備え、さらに、前記プレートの前記第1の流路に前記緩衝剤を充填させ、前記定量部を含む前記第2の流路に前記生体サンプルを充填させた後、該第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルを残存させて、前記緩衝剤に生体サンプルを一定量だけ添加する充填ユニットと、前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する判別ユニットと、を備えるものである。

[0021] これにより、生体サンプルの判別を行う際、プレートに、判別対象の生体サンプルと緩衝剤とを添加するだけで、該生体サンプルの判別結果が得られるため、煩雑な準備作業が不要で、正確な判別結果を得ることができる生体サンプル判別装置を提供できる。

[0022] また、本発明の請求項2に記載の生体サンプル判別装置は、請求項1に記載の生体サンプル判別装置において、前記プレートは、前記第1の流路に連通する緩衝剤注入部と、前記第2の流路に連通するサンプル注入部と、前記第2の流路において前記サンプル注入部と連通する空気孔を有しており、前記充填ユニットは、前記緩衝

剤注入部に前記緩衝剤が注入され、前記サンプル注入部に前記サンプルが注入された前記プレートを回転させ、遠心力により前記緩衝剤注入部内の前記緩衝剤を前記第1の流路に流入させるとともに、前記サンプル注入部内の前記生体サンプルを前記第2の流路中の前記定量部に達しない第1の流入位置まで流入させ、前記サンプル注入部を加圧して、前記第2の流路中の前記生体サンプルを、前記第1の流入位置から、該第2の流路中の前記定量部を含む第2の流入位置まで流入させた後、前記プレートを回転させ、遠心力により前記第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルが残るように、前記第2の流路内の前記生体サンプルを分離するものである。

[0023] これにより、緩衝剤の流路への充填処理を遠心力により実現でき、生体サンプルの充填処理を流路中の圧力差により実現でき、緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加する定量添加処理を遠心力により実現できるため、前記同様、煩雑な準備作業が不要で、且つ正確な判別結果を短時間で得ることができる生体サンプル判別装置を提供できる。

[0024] また、本発明の請求項3に記載の生体サンプル判別装置は、請求項1に記載の生体サンプル判別装置において、前記プレートは、前記第1の流路に連通する緩衝剤注入部と、前記第2の流路に連通するサンプル注入部と、前記第2の流路において前記サンプル注入部と連通する空気孔を有しており、前記充填ユニットは、前記緩衝剤注入部に前記緩衝剤が注入され、前記サンプル注入部に前記サンプルが注入された前記プレートを回転させ、遠心力により前記緩衝剤注入部内の前記緩衝剤を前記第1の流路に流入させるとともに、前記サンプル注入部内の前記生体サンプルを前記第2の流路中の前記定量部に達しない第1の流入位置まで流入させ、前記生体サンプルを加圧して、前記第2の流路中の前記生体サンプルを、前記第1の流入位置から、該第2の流路中の前記定量部を含む第2の流入位置まで流入させた後、前記空気孔から吸引して、前記定量部に前記一定量の生体サンプルが残るように、前記第2の流路内の生体サンプルを分離するものである。

[0025] これにより、緩衝剤の流路への充填処理を遠心力により実現でき、生体サンプルの流路への充填処理と、緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加する定量添加処理とを流路中に生じさせた圧力差により実現できるため、前記同様、煩雑な準備作業が

不要で、且つ正確な判別結果をより短時間で得ることができる生体サンプル判別装置を提供できる。

[0026] また、本発明の請求項4に記載の生体サンプル判別装置は、請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、前記充填ユニットは、前記プレートを高速回転させるモータと、前記第2の流路を加圧、或いは吸引する圧力操作部とを備えるものである。

[0027] これにより、流路中の緩衝剤や生体サンプルに対して遠心力を与えたり、また流路中に圧力差を生じさせて、該流路中の緩衝剤や生体サンプルを移動させることができるために、生体サンプルの判別を行う際、プレートに、判別対象の生体サンプルと緩衝剤とを添加するだけで、煩雑な準備作業が不要となる。

[0028] また、本発明の請求項5に記載の生体サンプル判別装置は、請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、前記充填ユニットを当該生体サンプル判別装置の下部に、前記判別ユニットを当該装置の上部に設け、前記プレートを、前記充填ユニットと前記判別ユニットとの間で上下移動させる昇降ステージを備えるものである。

[0029] これにより、プレートを、判別ユニットと充填ユニットとの間を移動させて、各ユニットにて充填処理や定量添加処理などを行わせることが可能になるため、生体サンプル判別装置をより小型化、且つ安価にすることができる。

[0030] また、本発明の請求項6に記載の生体サンプル判別装置は、請求項5に記載の生体サンプル判別装置において、前記判別ユニットは、当該装置の上部に設けられた天井板に、バネを介して懸架されるものである。

[0031] これにより、前記判別ユニットを当該装置の上部に容易に設置でき、且つ該判別ユニットの構成要素と前記プレートとを確実に接触させることができるために、当該装置をより小型化できることと共に、正確な判別結果を得ることができる。

[0032] また、本発明の請求項7に記載の生体サンプル判別装置は、請求項6に記載の生体サンプル判別装置において、前記第2の流路を加圧、或いは吸引する圧力操作部は、前記天井板にバネを介して懸架されるものである。

[0033] これにより、当該装置をより小型化することができる。

[0034] また、本発明の請求項8に記載の生体サンプル判別装置は、請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、前記判別ユニットは、前記第1の流路の温度をサーミスタで測定し、該測定結果に応じて該第1の流路を所定の温度になるよう制御するヒータを備え、前記第1の流路を前記ヒータで所定の温度にした後、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別するものである。

[0035] これにより、当該装置において、第1の流路の温度を同じ条件にすることができるため、当該装置において、より正確な判別結果を得ることができる。

[0036] また、本発明の請求項9に記載の生体サンプル判別装置は、請求項8に記載の生体サンプル判別装置において、前記判別ユニットは、前記ヒータ及びサーミスタの代わりに、前記プレートに設けられたヒータ及びサーミスタに、電圧を印加するヒータ接点ピン及びサーミスタ接点ピンを備えるものである。

[0037] これにより、前記判別ユニットをよりコンパクトにできるため、当該装置をより小型化、軽量化、且つ安価にすることができる。

[0038] また、本発明の請求項10に記載の生体サンプル判別装置は、請求項8に記載の生体サンプル判別装置において、前記ヒータを、前記第1の流路上に配置し、前記サーミスタを、該ヒータから、前記第1の流路と前記ヒータ間の距離だけ離れた位置に配置するものである。

[0039] これにより、前記サーミスタで前記第1の流路の温度を実温度に近い値で測定して、前記第1の流路を誤差なく所定の温度にすることができるため、当該装置において、より正確な判別結果を得ることができる。

[0040] また、本発明の請求項11に記載の生体サンプル判別装置は、請求項8に記載の生体サンプル判別装置において、前記サーミスタを、前記第1の流路上に配置し、前記ヒータを、該サーミスタから、前記第1の流路と前記サーミスタ間の距離だけ離れた位置に配置するものである。

[0041] これにより、前記同様、より正確な判別結果を得ることができる。

[0042] また、本発明の請求項12に記載の生体サンプル判別装置は、請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、前記判別ユニットは、前記プレートに設けられた嵌合ピン孔に挿入される嵌合ピンと、該判別ユニットを低速回転させる低

速回転モータと、を備え、該嵌合ピンで前記プレートを当該判別ユニットに嵌合して固定した後、該判別ユニットと共に前記プレートを前記低速回転モータで低速回転させ、該プレートの低速回転中に、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別するものである。

[0043] これにより、前記プレートと判別ユニットとを一体にして、モータで回転させることができるために、当該装置において、より正確な判別結果を得ることができる。

[0044] また、本発明の請求項13に記載の生体サンプル判別装置は、請求項12に記載の生体サンプル判別装置において、前記判別ユニットは、前記プレートに設けられた位置決めマークを検出する位置決めマーク検出センサを備え、前記低速回転モータで前記プレートを低速回転させて、該位置決めマーク検出センサで前記プレートの嵌合ピン孔を検出して、該プレートの位置決めをした後、該嵌合ピン孔に前記嵌合ピンを挿入するものである。

[0045] これにより、前記プレートと判別ユニットとを確実に嵌合させることができる。

[0046] また、本発明の請求項14に記載の生体サンプル判別装置は、請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、前記判別ユニットは、正電極、負電極を備え、前記充填ユニットが前記第2の流路の前記定量部に一定量の生体サンプルが残るように、前記第2の流路内の前記生体サンプルを分離した後、前記第1の流路中に前記正電極及び負電極を挿入して、該正電極と負電極間に電圧を印加し、前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で電気泳動によって移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別するものである。

[0047] これにより、前記第1の流路に充填された緩衝剤に添加された生体サンプルを、電気泳動により移動させ、その移動状態に基づいて判別結果を得るために、当該装置において、より短時間で正確な判別結果を得ることができる。

[0048] また、本発明の請求項15に記載の生体サンプル判別装置は、請求項14に記載の生体サンプル判別装置において、前記プレートに、前記正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設け、前記充填ユニットが前記第2の流路の前記定量部に一定量の生体サンプルが残るように、前記第2の流路内の前記生体サンプルを分離した後、前記正電極及び負電極を前記洗浄領域で洗浄し、該正電極及び負電極を前記第1の流

路中に挿入するものである。

- [0049] これにより、当該装置を保管している間に正電極、負電極に付着したごみ等の異物を洗い流すことができるため、当該装置において、より正確な判別結果を得ることができる。
- [0050] また、本発明の請求項16に記載の生体サンプル判別装置は、請求項14に記載の生体サンプル判別装置において、前記判別ユニットは、前記正電極及び負電極の代わりに、前記プレートに設けられた正電極及び負電極に、電圧を印加する2本の電極接点ピンを備えるものである。
- [0051] これにより、前記判別ユニットをよりコンパクトにできるため、当該装置をより小型化、軽量化、且つ安価にすることができる。
- [0052] また、本発明の請求項17に記載の生体サンプル判別装置は、請求項14に記載の生体サンプル判別装置において、前記生体サンプルは、DNAサンプルであり、前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含まれる検出対象である目的DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤とpH緩衝剤とを含むものである。
- [0053] これにより、当該装置において、検査対象となるDNAサンプルのSNPsの有無を、煩雑な準備作業をすることなく、短時間で、且つ正確に判別することができる。
- [0054] また、本発明の請求項18に記載の生体サンプル判別装置は、請求項1に記載の生体サンプル判別装置において、当該装置内の上昇した温度を冷却する冷却ファンを設け、該冷却ファンの空気取り入れ口に、当該装置外部から入射される光を遮断する光遮断部を設けるものである。
- [0055] これにより、当該装置内に光を入射させることなく、空気を循環させて装置内部を冷却することができるため、当該装置において、生体サンプルを正確に判別することができる。
- [0056] また、本発明の請求項19に記載の生体サンプル判別装置は、請求項18に記載の生体サンプル判別装置において、前記光遮断部は、多孔質膜からなるものである。
- [0057] これにより、前記同様、該装置において、生体サンプルを正確に判別することを実現できる。

[0058] また、本発明の請求項20に記載の生体サンプル判別装置は、請求項18に記載の生体サンプル判別装置において、前記光遮断部は、L字形状もしくはクランク形状の邪魔板からなるものである。

[0059] これにより、前記同様、該装置において、生体サンプルを正確に判別することを実現できる。

[0060] また、本発明の請求項21に記載の生体サンプル判別装置は、請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、前記判別ユニットは、前記第1の流路に充填された前記緩衝剤の蛍光度あるいは吸光度を検出する光学検出部を備え、該光学検出部の検出結果に基づいて、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別するものである。

[0061] これにより、第1の流路を光学検出部でスキャンすることで、緩衝剤中を移動する生体サンプルの移動状態を検出することができるため、短時間で正確な判別結果を得ることができる。

[0062] また、本発明の請求項22に記載の生体サンプル判別装置は、請求項21に記載の生体サンプル判別装置において、前記光学検出部は、前記プレートを上下移動させる昇降ステージ上に設けられており、該昇降ステージ上に、前記プレートと該昇降ステージとの距離を測定し、該測定結果が一定になるよう調整する高さ調整部を備えるものである。

[0063] これにより、光学検出部とプレート間の距離を一定に保つことができるため、当該装置においてより正確な判別結果を得ることができる。

[0064] また、本発明の請求項23に記載の生体サンプル判別方法は、緩衝剤中を移動する生体サンプルを検出して、生体サンプルを判別する生体サンプル判別方法において、前記緩衝剤が流入する第1の流路と、その流路の一部に、前記第1の流路とその一部の流路を共通とし、一定量の生体サンプルを保持する定量部を含み、該定量部を含む流路に前記生体サンプルが流入される第2の流路と、を有する流路パターンが形成されたプレートを用い、前記第1の流路に前記緩衝剤を充填させ、前記定量部を含む第2の流路に前記生体サンプルを充填させた後、該第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルを残存させて、前記緩衝剤に生体サンプルを一定量だけ添

加し、該一定量の生体サンプルを前記緩衝剤中で移動させ、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別するものである。

[0065] これにより、プレートに、判別対象の生体サンプルと緩衝剤とを添加するだけで、該生体サンプルの判別結果が得られるため、煩雑な準備作業が不要で、正確な判別結果を得ることができる。

[0066] また、本発明の請求項24に記載の生体サンプル判別方法は、請求項23に記載の生体サンプル判別方法において、前記緩衝剤が注入される前記第1の流路と、前記定量部を含む前記生体サンプルが注入される前記第2の流路と、該第2の流路において前記生体サンプルを注入するサンプル注入部に連通する空気孔と、を有する流路パターンが形成されたプレートを高速回転させて、遠心力により、前記第1の流路に前記緩衝剤を流入させ充填させると共に、該第2の流路中の前記定量部に達しない第1の流入位置まで前記生体サンプルを流入させ、前記第2の流路のサンプル注入部を加圧して、前記第2の流路中の前記生体サンプルを、前記第1の流入位置から、該第2の流路の前記定量部を含む第2の流入位置まで流入させ充填させた後、前記プレートを高速回転させ、遠心力により前記第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルが残るように、前記第2の流路内の生体サンプルを分離し、前記第1の流路を一定温度にした後、前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別するものである。

[0067] これにより、緩衝剤の流路への充填処理を遠心力により実現でき、生体サンプルの充填処理を流路中に生じさせた圧力差により実現でき、緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加する定量添加処理を遠心力により実現できるため、前記同様、煩雑な準備作業が不要で、且つ正確な判別結果を短時間で得ることができる。

[0068] また、本発明の請求項25に記載の生体サンプル判別方法は、請求項23に記載の生体サンプル判別方法において、前記緩衝剤が注入される前記第1の流路と、前記定量部を含む前記生体サンプルが注入される前記第2の流路と、該第2の流路において前記生体サンプルを注入するサンプル注入部に連通する空気孔と、を有する流路パターンが形成されたプレートを高速回転させて、遠心力により、前記第1の流路

に前記緩衝剤を流入させ充填させると共に、該第2の流路中の前記定量部に達しない第1の流入位置まで前記生体サンプルを流入させ、前記第2の流路のサンプル注入部を加圧して、前記第2の流路中の前記生体サンプルを、前記第1の流入位置から、該第2の流路の前記定量部を含む第2の流入位置まで流入させ充填させた後、該第2の流路の空気孔から吸引して、前記第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルが残るよう、前記第2の流路内の生体サンプルを分離し、前記第1の流路を一定温度にした後、前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別するものである。

[0069] これにより、緩衝剤の流路への充填処理を遠心力により実現でき、生体サンプルの流路への充填処理と、緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加する定量添加処理とを流路中の圧力差により実現できるため、前記同様、煩雑な準備作業が不要で、且つ正確な判別結果をより短時間で得ることができる生体サンプル判別装置を提供できる。

[0070] また、本発明の請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートは、生体サンプルの判別を行なうためのプレートであって、前記生体サンプルと反応する緩衝剤を当該プレートへ注入するための緩衝剤注入部と、前記緩衝剤注入部に接続された第1の流路と、前記生体サンプルを当該プレートへ注入するためのサンプル注入部と、前記サンプル注入部に接続された第2の流路と、を含むパターン流路を備え、前記第2の流路は、その流路の一部に前記第1の流路に供給する生体サンプルを一定量保持する定量部を含み、前記第1の流路と前記第2の流路とは前記定量部を介して接続されているものである。

[0071] これにより、第1の流路、第2の流路それぞれに、緩衝剤、生体サンプルを充填すると、前記定量部にて、緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加することができる流路パターンを備えた生体サンプル判別用プレートを提供できる。

[0072] また、本発明の請求項27に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路と前記第2の流路とが前記定量部を介して平行に接しているものである。

[0073] これにより、定量部にて、緩衝剤中に一定量の生体サンプルを添加することが可能

となる。

[0074] また、本発明の請求項28に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路中に、正および負の電極部もしくは、正電極、負電極が挿入される第1、第2の電極挿入部が設けられているものである。

[0075] これにより、緩衝剤中に添加された一定量の生体サンプルを、該緩衝剤中に電気泳動させることができる。

[0076] また、本発明の請求項29に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記緩衝剤注入部を第1の流路の両端に設け、前記サンプル注入部と連通する空気孔を第2の流路に設けるものである。

[0077] これにより、緩衝剤を第1の流路の両端から充填することができるため、第1の流路中に気泡をかむことなく、短時間で緩衝剤を充填させることができる。

[0078] また、本発明の請求項30に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記緩衝剤注入部に前記緩衝剤を注入し、前記サンプル注入部に前記生体サンプルを注入した後、第1の工程において、前記緩衝剤注入部より注入された緩衝剤が第1の流路に充填され、第2の工程において、前記サンプル注入部より注入された生体サンプルが前記定量部を含む第2の流路に充填された後、第3の工程において、前記第2の流路内の前記生体サンプルを分離して、前記生体サンプルを定量部に一定量残存させ、第4の工程において、該残存させた一定量の生体サンプルを前記第1の流路の緩衝剤中に移動させるものである。

[0079] これにより、第1の流路、第2の流路にそれぞれ緩衝剤、生体サンプルを充填すると、前記定量部において、緩衝剤に一定量の生体サンプルを添加できるため、生体サンプルの判別を行う際の煩雑な準備作業をなくすことができる。

[0080] また、本発明の請求項31に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項30に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の工程が、加圧、吸引もしくは毛細管現象により、前記緩衝剤を前記第1の流路へ充填するものであるものである。

[0081] これにより、第1の流路に緩衝剤を容易に且つ短時間で充填させることができる。

[0082] また、本発明の請求項32に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項30に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第2の工程が、加圧、吸引もしくは毛細管現象により、前記生体サンプルを前記定量部を含む前記第2の流路に充填するものであるものである。

[0083] これにより、第2の流路に生体サンプルを容易に且つ短時間で充填させることができる。

[0084] また、本発明の請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートは、緩衝剤中を移動する生体サンプルを検出して、生体サンプルを判別する生体サンプル判別用プレートであって、前記緩衝剤がその一部に注入され、当該プレートを高速回転させると該緩衝剤が充填される第1の流路と、その流路の一部に、前記第1の流路とその一部の流路を共通とし、一定量の前記生体サンプルを保持する定量部を含み、当該プレートを高速回転させると前記生体サンプルが前記定量部に達しない第1の流入位置まで流入され、当該プレートを加圧させると、該第2の流路中の生体サンプルが前記第1の流入位置から前記定量部を含む第2の流入位置まで流入される第2の流路と、を有する流路パターンを備えるものである。

[0085] これにより、第1の流路に緩衝剤を充填させた後に、第2の流路に生体サンプルを充填させることができるために、前記一定量の生体サンプルを緩衝剤中に確実に添加することができる。

[0086] また、本発明の請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路の一部に、負電極、正電極が挿入される第1、第2の電極挿入部を備えるものである。

[0087] これにより、緩衝剤中に添加された一定量の生体サンプルを、該緩衝剤中で電気泳動させることができる。

[0088] また、本発明の請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路は、当該生体サンプル判別用プレートの中心を円心とした円の円周方向に伸びる弧状流路の内周側である内周流路と、外周側にある外周流路と、該内周流路と外周流路のそれぞれの両

端を接続する前記円心から放射方向に伸びる放射流路とで周回形状を有する流路からなり、前記第2の流路は、前記内周流路と前記外周流路間に位置する前記弧状流路と、その弧状流路一部に設けられたコの字形状の流路と、からなり、前記定量部は、前記外周流路の一部と、前記第2の流路の前記コの字形状を有する流路の一部とが平行に接してなるものである。

[0089] これにより、緩衝剤を前記第1の流路に気泡を含むことなく容易に短時間で充填した後に、生体サンプルを第2の流路に気泡を含むことなく充填し、また、前記定量部にて、前記第1の流路に充填された緩衝剤中に生体サンプルを添加することを実現できる。

[0090] また、本発明の請求項36に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記緩衝剤が注入され、第1の流路に連通する前記緩衝剤注入部が、前記第1の流路の内周側に位置するものである。

[0091] これにより、遠心力によって、緩衝剤注入部に添加された緩衝剤を、第1の流路中に短時間で確実に充填させることができる。

[0092] また、本発明の請求項37に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記生体サンプルが注入され、前記第2の流路に連通するサンプル注入部が、前記第2の流路の内周側に位置するものである。

[0093] これにより、遠心力によって、サンプル注入部に添加された生体サンプルを、第2の流路に気泡を含むことなく、短時間で流入させることができる。

[0094] また、本発明の請求項38に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1、第2の電極挿入部は、前記第1の流路の前記放射流路の一部に設けられるものである。

[0095] これにより、前記第1の流路に緩衝剤を充填する際に、第1、第2の電極挿入部の内部に気泡が含まれないようにすることができる。

[0096] また、本発明の請求項39に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路の前記内周流路のほぼ中央に、前記緩衝剤を注入する緩衝剤注入部を設けるものである。

[0097] これにより、前記緩衝剤注入部に緩衝剤が注入されると、該緩衝剤は前記第1の流路の内周流路の中央から、その両端に2つに分離されて充填されていくため、遠心力により緩衝剤を第1の流路に充填する際に該流路内に気泡を含まないようにできる。

[0098] また、本発明の請求項40に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記緩衝剤を第1の流路に充填させた際、該緩衝剤は、前記第1の流路のうちの、前記外周流路及び前記第1、第2の電極挿入部に充填されるものである。

[0099] これにより、前記第1の流路に充填された緩衝剤中に添加された生体サンプルを、確実に電気泳動させることができると、正確な判別結果を得ることができる。

[0100] また、本発明の請求項41に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記内周流路の前記弧状流路は、該流路が円弧上から前記外周流路側にすこしずれた梢円円弧上にあるものである。

[0101] これにより、遠心力により緩衝剤を第1の流路に充填させる際に、途中で緩衝剤の流れがとまったり、あるいは流路中に気泡が含まれたりするのを防止することができる。

[0102] また、本発明の請求項42に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記内周流路の流路幅は、前記外周流路の流路幅より広いものである。

[0103] これにより、緩衝剤が第1の流路に注入されてから、第1、第2の電極挿入部に達するまでの時間を短くできるため、流路中にある空気の抜けをよくすると共に、緩衝剤が第1の流路に充填されるまでの時間をより短くできる。

[0104] また、本発明の請求項43に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記外周流路は、前記第1の電極挿入部から前記定量部までの流路の長さと、前記第2の電極挿入部から該定量部までの流路の長さとの差を調整する流路長調整部を有するものである。

[0105] これにより、第1の電極挿入部から定量部までの長さと、第2の電極挿入部から定量部までの長さとを略同じ長さにすることができるため、外周流路に気泡が含まれるのを防止することができる。

[0106] また、本発明の請求項44に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第2の流路の一端に、前記生体サンプルを注入するサンプル注入部を設け、そのもう一端に、前記第2の流路に前記生体サンプルを充填する際に、前記サンプル注入部から注入された前記生体サンプルを保持するサンプルプールを設けるものである。

[0107] これにより、第2の流路に圧力差を生じさせて、第2の流路に生体サンプルを確実に充填させることができる。

[0108] また、本発明の請求項45に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路の上部に、該第1の流路を加熱するヒータ及び該第1の流路の温度を測定するサーミスターを設け、前記第1、第2の電極挿入部中に、正電極及び負電極を設けるものである。

[0109] これにより、第1の流路の温度調整がしやすくなり、より正確な判別結果が得られると共に、当該プレートを装着する生体サンプル判別装置をより小型化、軽量化することができる。

[0110] また、本発明の請求項46に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1、第2の電極挿入部は、空気孔を有するものである。

[0111] これにより、第1、第2の電極挿入部に設けられた空気孔により空気抜きができるため、外周流路に緩衝剤を遠心力によって充填する際に、気泡が含まれるの防止することができる。

[0112] また、本発明の請求項47に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項44に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記サンプルプールは、空気孔を有するものである。

[0113] これにより、前記サンプルプールに設けられた空気孔により空気抜きができるため、第2の流路に生体サンプルを充填する際に、気泡が含まれるのを防止することができる。

[0114] また、本発明の請求項48に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記生体サンプルは

DNAサンプルであり、前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含まれる検出対象である目的DNAに、水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤とpH緩衝剤とを含むものである。

- [0115] これにより、当該生体サンプル判別用プレートにおいて、判別対象であるDNAサンプルのSNPsの有無を判別することができる。
- [0116] また、本発明の請求項49に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1、第2の電極挿入部に、前記正電極、負電極を挿入するための電極挿入口を設け、該電極挿入口には、カバーフィルムを貼るものである。
- [0117] これにより、当該生体サンプル判別用プレートを高速回転させても、該電極挿入孔から緩衝剤がこぼれないようにすることができる。
- [0118] また、本発明の請求項50に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、当該生体サンプル判別用プレート上に、前記流路パターンを複数個形成するものである。
- [0119] これにより、生体サンプル判別装置の1回動作で、多くの検出結果を得ることができる。
- [0120] また、本発明の請求項51に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、当該生体サンプル判別用プレートに、前記正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設け、前記正電極、負電極を前記洗浄領域で洗浄した後、該正電極と負電極を前記第1の流路に挿入するものである。
- [0121] これにより、測定開始前等に、前記正電極、負電極に付着したごみ等の異物を洗い流すことができるため、より正確な判別結果を得ることができる。
- [0122] また、本発明の請求項52に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記緩衝剤注入部を前記第1の流路の両端に設け、該緩衝剤注入部を前記電極部もしくは前記電極挿入部としても用いるものである。
- [0123] これにより、流路パターンの形状を単純にできると共に、一つの流路パターンの全

体形状をコンパクトにできるため、プレートに複数の流路パターンを形成することができる。

[0124] また、本発明の請求項53に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路及び前記第2の流路が、前記プレート表面に形成された溝と、前記プレート表面を覆うフィルムとによって形成されているものである。

[0125] これにより、単純な構成で密閉流路を形成できるため、当該プレートに流路パターンを簡単に形成することができる。

[0126] また、本発明の請求項54に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路及び前記第2の流路が、前記プレートの同一表面に形成されているものである。

[0127] これにより、流路パターンをプレート上に簡単に形成できる。

[0128] また、本発明の請求項55に記載の生体サンプル判別用プレートは、請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路及び前記第2の流路が、前記プレートの同一表面に形成されているものである。

[0129] これにより、緩衝剤注入口とサンプル注入口とを異なる面に形成できるため、あやまって異なる液を注入口に注入するのを防止することができる。

## 発明の効果

[0130] 本発明の生体サンプル判別装置によれば、緩衝剤が流入される第1の流路と、その流路の一部に、前記第1の流路とその一部の流路を共通とし、一定量の生体サンプルを保持する定量部を含み、該定量部を含む流路に前記生体サンプルが流入される第2の流路と、を有する流路パターンが形成されたプレートを備え、さらに、該プレートの前記第1の流路に前記緩衝剤を充填させ、前記定量部を含む前記第2の流路に前記生体サンプルを充填させた後、該第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルを残存させて、前記緩衝剤に生体サンプルを一定量だけ添加する充填ユニットと、前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する判別ユニットと、を備えるようにしたので、前記生体サンプルの判別を行う際に煩雑な準備作業が不要で、且つ正確

な判別結果を短時間で得ることができる生体サンプル判別装置を提供できる。

[0131] また、本発明の生体サンプル判別装置によれば、当該装置下部に充填ユニット、装置上部に判別ユニット、及びプレートを前記充填ユニットと前記判別ユニットとの間で移動させる昇降ステージを設けるようにしたので、当該生体サンプル判別装置を小型化、軽量化することができる。

[0132] さらに、前記充填ユニットがプレートを高速回転させるモータを備え、前記判別ユニットが第2の流路に圧力差を生じさせる圧力操作部を備えるので、第1の流路に緩衝剤を、また第2の流路に生体サンプルを、確実に充填させることができると共に、一定量の生体サンプルを定量して、緩衝剤中に添加することができる。

[0133] さらに、前記判別ユニットが正電極、負電極を備えるので、緩衝剤中に添加された一定量の生体サンプルを電気泳動により移動させることができる。

[0134] さらに、蛍光度あるいは吸光度を検出する光学検出部を設け、第1の流路をスキャンして、緩衝剤中を移動する生体サンプルの移動状態を検出して、該生体サンプルの判別を行うようにしたので、正確な判別結果を容易に短時間で得ることが可能となる。

[0135] また、本発明の生体サンプル判別方法によれば、緩衝剤が流入する第1の流路と、その流路の一部に、前記第1の流路とその一部の流路を共通とし、一定量の生体サンプルを保持する定量部を含み、該定量部を含む流路に前記生体サンプルが流入される第2の流路と、を有するプレートを用い、前記第1の流路に前記緩衝剤を充填させ、前記第2の流路に前記生体サンプルを充填させた後に一定量の生体サンプルを定量して緩衝剤中に添加し、その後に、緩衝剤に対して移動する生体サンプルを判別するようにしたので、煩雑な準備作業が不要で、正確且つ短時間で生体サンプルの判別ができる効果がある。

[0136] また、本発明の生体サンプル判別用プレートによれば、当該プレートに形成される流路パターンは、前記緩衝剤がその一部に注入され、当該生体サンプル判別用プレートを高速回転させると該緩衝剤が充填される第1の流路と、前記生体サンプルがその一部に注入され、当該生体サンプル判別用プレートを高速回転させると該生体サンプルが遠心分布され、加圧されると該生体サンプルが充填される、前記第1の流路

とその流路の一部を共通にする第2の流路と、を備えるようにしたので、前記生体サンプル判別装置を、小型且つ軽量で、安価にすることができると共に、煩雑な準備作業が不要で、正確且つ短時間で生体サンプルの判別を行える効果がある。

### 図面の簡単な説明

[0137] [図1]図1は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の構成を示す図である。

[図2(a)]図2(a)は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の冷却ファン周辺の構成例を示す詳細図である。

[図2(b)]図2(b)は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の冷却ファン周辺の別の構成例を示す詳細図である。

[図3(a)]図3(a)は本発明の実施の形態1にかかるプレートの上面を示す図である。

[図3(b)]図3(b)は本発明の実施の形態1にかかるプレートの下面を示す図である。

[図3(c)]図3(c)は本発明の実施の形態1にかかるプレートのA-A断面を示す図である。

[図4]図4は本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されるパターンを示す図である。

[図5]図5は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の一連の動作を示すフローチャートである。

[図6(a)]図6(a)は本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに、サンプルを注入した時点の図である。

[図6(b)]図6(b)は本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに對し、コンジュゲート充填処理を施した時点の図である。

[図6(c)]図6(c)は本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに對し、コンジュゲート充填処理を施した後の図である。

[図6(d)]図6(d)は本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに對し、加圧処理を施した後の図である。

[図6(e)]図6(e)は本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成されたパターンに對し、定量添加処理を施した後の図である。

[図7(a)]図7(a)は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、昇降ステージの第1断面の位置を示す図である。

[図7(b)]図7(b)は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、昇降ステージが第1断面の位置から第2段目の位置に移動途中を示す図である。

[図7(c)]図7(c)は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、昇降ステージが第1断面の位置から第2段目の位置に移動途中を示す図である。

[図7(d)]図7(d)は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、昇降ステージの第2段目の位置を示す図である。

[図8]図8は本実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、プレート合わせ位置検出センサからの信号を示す図である。

[図9]図9は本発明の実施の形態1にかかるプレート上に形成されたパターンの特徴を記した図である。

[図10(a)]図10(a)は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、サーミスタとヒータとの位置関係の一例を示す図である。

[図10(b)]図10(b)は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の、サーミスタとヒータとの位置関係の別の例を示す図である。

[図11]図11は本発明の実施の形態1にかかるプレートに形成された第2の流路にDNAサンプルが充填されて、該DNAサンプルが第1の流路に充填されたDNAコンジュゲート溶液中を移動していく様子を示す図である。

[図12]図12は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置において、DNAサンプルの吸光度を測定した結果を示す図である。

[図13]図13は本発明の実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の原理を説明する図である。

[図14]図14は本発明の実施の形態1にかかるプレートに、パターンを4つ設けた場合の下面を示す図である。

[図15]図15は本発明の実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置の構成を示す図である。

[図16]図16は本発明の実施の形態2にかかるプレートの断面図である。

[図17]図17は本発明の実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置の別の構成を示す図である。

[図18]図18は本発明の実施の形態2にかかるプレートの別の構成を示す断面図である。

[図19]図19は本発明の実施の形態3にかかるプレートの一例を示す断面図である。

[図20]図20は本発明の実施の形態3にかかるプレートの別の例を示す断面図である。

[図21]図21は本発明の実施の形態3にかかる生体サンプル判別装置の構成の一部を示す図である。

[図22(a)]図22(a)は本発明の実施の形態4にかかる生体サンプル判別装置の光学検出部の構成の一例を示す図である。

[図22(b)]図22(b)は本発明の実施形態4にかかる生体サンプル判別装置の光学検出部の構成の別の例を示す図である。

[図22(c)]図22(c)は本発明の実施の形態4にかかる生体サンプル判別装置の光学検出部の構成の別の例を示す図である。

[図23(a)]図23(a)は本発明の実施の形態5にかかる生体サンプル判別用プレートの試料注入面を示す図である。

[図23(b)]図23(b)は本発明の実施の形態5にかかる生体サンプル判別用プレートの流路生成面を示す図である。

[図24]図24は本発明の実施の形態5にかかる生体サンプル判別用プレートに形成されるパターンの一例を示す図である。

### 符号の説明

- [0138] 10 プレート
- 10a 開口部
- 11 嵌合ピン孔
- 12 位置決めマーク
- 13 プレート確認マーク
- 14 キャピラリーシール

- 15 カバーフィルム
- 16 洗浄領域
- 20 充填ユニット
- 21 高速回転モータ
- 21a プレート受け部
- 22 プレート保持部
- 23 プレート確認センサ
- 24 加圧部
- 30 判別ユニット
- 31 嵌合ピン
- 32a, 32b 電極
- 33 ヒータ
- 34, 142 サーミスタ
- 35 位置決めマーク検出センサ
- 36 クランバ
- 37 天井板
- 38 低速回転モータ
- 40 光学検出部
- 41 高さ調整部
- 41a マイクロメータ
- 41b ボイスコイルモータ
- 41c 圧電素子
- 42 距離測定部
- 50 昇降ステージ
- 51 上下動モータ
- 52 加圧ポンプ部
- 53 ポンプチューブ
- 54 装置内温度検出センサ

- 55 ヒータ温度検出センサ
- 60 筐体
- 61 扇
- 62 電源スイッチ
- 63 LED
- 64 冷却ファン
- 65a, 65b ゴム脚
- 66 高圧電源
- 67 装置電源
- 68 制御基板
- 69a 邪魔板
- 69b フィルタ
- 100, 200, 300 生体サンプル判別装置
- 110 流路パターン
- 111 第1の電極挿入部
- 112 第2の電極挿入部
- 113 緩衝剤注入部
- 114 サンプル注入部
- 115 サンプルプール
- 116 第1の流路
- 116a 内周流路
- 116b 外周流路
- 117 第2の流路
- 117a 定量部
- 118 第1の電極待機孔
- 119 第2の電極待機孔
- 121, 122 電極挿入口
- 123, 124 注入口

- 131, 132, 135 空気孔
- 136 加圧待機孔
- 141 ヒータ電極薄膜
- 143a 第1の電極
- 143b 第2の電極
- 232a, 232b 電極接点ピン
- 233 ヒータ接点ピン
- 234 サーミスタ接点ピン
- 301 電極洗浄槽
  - A サンプルの定量部
  - B 第1の電極挿入部から定量部Aに至る途中流路
  - C 泳動領域
- R コーナー

### 発明を実施するための最良の形態

[0139] (実施の形態1)

以下、図1～図14を用いて、本実施の形態1における生体サンプル判別装置について説明する。

[0140] 本発明は、生体サンプルを緩衝剤中で移動させて、生物学的、酵素的、免疫学的、及び化学的アッセイを行う生体サンプル判別装置の小型化、軽量化且つ安価で実現するものである。

[0141] なお、本実施の形態1では、説明を具体的にするために、前記生体サンプルはDNAサンプルであり、前記緩衝剤は分離用DNAコンジュゲートにMgCl<sub>2</sub>などのDNA結合制御剤及び電解質の役目もするpH緩衝剤を含めたDNAコンジュゲート溶液であるものとし、本生体サンプル判別装置が、前記DNAコンジュゲート溶液中に、一定量の前記DNAサンプルを添加して電気泳動させ、該DNAサンプルのSNPs(一塩基多型)の有無を判別するものとする。

[0142] 図1は、本実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置の構成図である。

[0143] 図1に示すように、本実施の形態1にかかる生体サンプル判別装置100は、プレー

ト10に形成された流路に前記DNAコンジュゲート溶液を充填し、該DNAコンジュゲート溶液が充填された流路中にDNAサンプルを定量して添加する充填ユニット20と、プレート10に対して加圧、加熱、電圧印加を行い、前記DNAサンプルを前記DNAコンジュゲート溶液中で電気泳動させて、SNPsの有無を判別する判別ユニット30と、前記プレートを上下動モータ51により上下移動させる昇降ステージ50と、本装置100の動作を制御する制御基板68とを備える。

[0144] また本装置100は、装置の下部に昇降ステージ50が配置され、該昇降ステージ50上に充填ユニット20が配置され、さらに該昇降ステージ50の上方に判別ユニット30が配置される構成を有しており、装置構成がよりコンパクトなものとなっている。

以下、各ユニットの詳細な構成を述べる。

[0145] 前記充填ユニット20は、前記プレート10を高速回転させる高速回転モータ21と、前記プレート10を保持し、その一部が当該装置100内に固定され、該筐体60に設けられた扉61を介して、当該装置100の内部から外部へあるいは外部から内部へ移動するプレート保持部22と、測定開始前にプレートの有無を確認するプレート確認センサ23と、流路を加圧して流路中に圧力差を生じさせる加圧部24とを備えている。

[0146] また前記判別ユニット30は、プレート10を該判別ユニット30に固定する嵌合ピン31と、前記プレート10に形成された流路に電圧を印加する正及び負の電極32a, 32bと、該流路を一定の温度に保つヒータ33と、前記プレート10と判別ユニット30とを固定する際の位置決めを行う位置決めマーク検出センサ35と、前記プレート10を保持するクランプ36、及びプレート10に設けられた流路の温度を検出するサーミスタ34と、プレートを低速回転させる低速回転モータ38とを備えている。

[0147] 本実施の形態1の装置100では、当該装置構成をコンパクトなものとするために、前述した判別ユニット30の構成要素に加え、前記充填ユニット20の構成要素である前記加圧部24も、当該装置上部に設けられた天井板37に設置している。また、前記天井板37に設置された、嵌合ピン31、正、負電極32a, 32b、ヒータ33、サーミスタ34、クランプ36、及び加圧部24には、プレート10に対して適度なテンションを与えるためのバネが設けられ、該バネによりプレート10に押し付けられるように構

成されている。

[0148] また、本実施の形態1の装置100では、DNAコンジュゲート溶液中を移動するDNAサンプルを判別するために、該DNAコンジュゲート溶液中を移動する前記DNAサンプルの蛍光度あるいは吸光度を検出する光学検出部40を備え、前記光学検出部40の検出結果からDNAサンプルのDNAコンジュゲート溶液中での移動状態を判断し、その判断結果に基づいてDNAサンプルのSNPsの有無を判別する。なお、本実施の形態1では、前記光学検出部40は昇降ステージ50上に設けられている。

[0149] また、前記ヒータ33には、ヒータの温度を検出するヒータ温度検出センサ55が設けられ、装置100内には、該装置内の温度を検出する装置内温度検出センサ54が設けられている。

[0150] さらに、本生体サンプル判別装置100は、該装置内の温度を検出する装置内温度検出センサ54、また前記加圧部24にポンプチューブ53を介して接続されている加圧ポンプ52、高圧電源66、装置電源67が設けられている。そして、当該装置100の筐体60に、装置100のon、off状態を切り換える電源スイッチ62、該電源スイッチ62がON状態の際に点灯するLED63、装置100内を冷却する冷却ファン64、及び装置100を振動から守り、高さ調節可能なゴム脚65a、65bが備えられている。

[0151] ここで、前記装置100に設けられる冷却ファン64は、外部の空気を内部に取り込むか、内部の上昇した空気を外部に逃がして冷却を行う。しかし、本生体サンプル判別装置100は、光学検出部40においてプレート上の光の強度を検出して検出結果を得るものであるため、装置100内部に光が侵入しないようにしなければならない。そこで、本実施の形態1では、冷却ファン64に光遮断部を設けて、空気は通して光は通さないようにしている。

[0152] 図2は、光遮断部の構成例を示す断面図である。前記光遮断部の1つ目の例としては、冷却ファン64が取り付けられる筐体60の内側に、図2(a)に示すような、光を遮断するが空気は十分通過可能なクランク形状もしくはL字形状を有する邪魔板69aを設けることが考えられ、また、2つ目の例としては、冷却ファン64が取り付けられる筐体60の内側に、図2(b)に示すような、光は透過しないが空気は透過させるフィルタ69bを設けることが考えられる。なお、前記フィルタ69bの材料としては、多孔質のフィ

ルムを数枚重ねたり、微小な細孔を連通管で接続していく多孔質構造の材料が例として挙げられる。

[0153] 次に、プレート10について説明する。

図3(a)は本実施の形態1におけるプレートの上面、図3(b)はプレートの下面、図3(c)はプレートのA—A断面を示す図であり、図4はプレートに形成されたパターンの詳細な形状を示す図である。

[0154] 図3(a)に示すように、本実施の形態1におけるプレート10はその中央に、本プレート10を回転させる場合モータ等と接合するために使用する開口部10aが設けられ、図1に示す本生体サンプル判別装置100内の天井板37に設けられた嵌合ピン31の挿入先である嵌合ピン孔11が設けられている。そして該プレート10の下面には、図3(b)に示すように、DNAコンジュゲート溶液中でDNAサンプルを移動させるための流路パターン110、及び前記プレート確認センサ23により検出されるプレート確認マーク13が設けられ、また、該プレート10の上面には、図3(a)に示すように、前記位置決めマーク検出センサ35により検出される位置決めマーク12、及びDNAコンジュゲート溶液や検体となるDNAサンプルを注入する注入口123, 124、各電極32a, 32bを挿入する電極挿入口121, 122、空気孔131, 132, 135などが設けられている。

[0155] また、前記プレート10の下面には、図3(c)に示すように、プレート10に形成された前記流路パターン110をふさぐようにキャピラリーシール14がはられ、そして、該プレート10の上面には、前記電極挿入口のみをふさぐようにカバーフィルム15がはかれている。なお、前記キャピラリーシール14は、光学検出部40により流路中のDNAコンジュゲート溶液の吸光度、あるいは蛍光度を測定する必要があるため透明であるのがよい。

[0156] 以下、図4を用いてプレートを詳細に説明する。

[0157] 前記流路パターン110は、DNAコンジュゲート溶液が充填される第1の流路116と、DNAサンプルが充填される第2の流路117とを備え、前記第1の流路116は、プレートの内周側の流路である内周流路116aと外周側の流路である外周流路116bにより周回形状を有する。詳述すると、前記流路パターン110は、前記内周流路116aよりプレート10の内周側に位置する、DNAサンプルを分離させるDNAコンジュゲー

ト溶液が注入される緩衝剤注入部113と、前記第2の流路117よりプレート10の内周側に位置する、DNAサンプルが注入されるサンプル注入部114と、該サンプル注入部114に注入されたDNAサンプルが前記第2の流路を介して移動した移動先であるサンプルプール115と、負電極を挿入する第1の電極挿入部111と、正電極を挿入する第2の電極挿入部112とを備えている。前記第1の流路116の内周流路116aは、緩衝剤注入部113と第1の電極挿入部111間、及び緩衝剤注入部113と第2の電極挿入部112間を接続し、前記外周流路116bは、前記第1の電極挿入部111と第2の電極挿入部112間を接続する。そして、前記第2の流路117は、第2の電極挿入部112とサンプルプール115とを接続するものであり、その一部の流路に、前記第1の流路116の一部と共に且つ該第1の流路116に充填されたDNAコンジュゲート溶液中に添加する一定量のDNAサンプルを保持する定量部117aを含む。そして、前述した生体サンプル判別装置100にて、DNAサンプルのSNPsの有無を判別する際には、前記外周流路116bの一部である泳動流路の吸光度、あるいは蛍光度を前記光学検出部40により測定することで、定量添加されたDNAサンプルのSNPsの有無を判別する。

[0158] ここで、前記光学検出部40により泳動流路の蛍光度を検出する場合、泳動流路の深さが深すぎると蛍光度の検出効率が悪いため、流路の幅は広く、深さは浅いのが好ましい。例えば幅300  $\mu$  m、深さ50  $\mu$  mの流路が例に挙げられる。一方、光学検出部40により泳動流路の吸光度を検出する場合には、泳動流路の深さが浅すぎると吸光度が検出されにくいため、流路は適度な深さがあることが好ましく、例えば、幅300  $\mu$  m、深さ300  $\mu$  mの流路が例に挙げられる。ただし、電気泳動の分離能を考慮すると、できれば流路の幅は細い方が望ましい。

[0159] さらに、前記流路パターン110には、測定時でないときに前記電極32a, 32bを待機させるための第1, 第2の電極待機孔118, 119が、第1, 第2の電極挿入部111, 112の同心円上に設けられ、また、加圧部24による加圧時でないときに該加圧部24を待機させるための加圧待機孔136が、サンプル注入部114の同心円上に設けられている。また、前記第1, 第2の電極挿入部111, 112には、負電極32a, 正電極32bをそれぞれ挿入する電極挿入口121, 122、及び空気孔131, 132が設けられ、緩

衝剤注入部113、サンプル注入部1114にはそれぞれ注入口123, 124が設けられ、サンプルプール115には空気孔135が設けられている。

- [0160] 以下、DNAサンプルのSNPs(一塩基多型)の有無を判別するまでの生体サンプル判別装置の具体的な操作及び動作について説明する。
- [0161] 図5は、本実施の形態1の生体サンプル判別装置の一連の動作を示すフローチャートである。
- [0162] (ステップS1)まず、検体となるDNAサンプル、及びDNAコンジュゲート溶液を準備し、シリンジによる手作業で、図6(a)に示すように、プレート10に設けられた流路パターン110の緩衝剤注入部113に、注入口123からDNAコンジュゲート溶液Dcを注入し、また、サンプル注入部114に、注入口124からDNAサンプルDsを注入する。
- [0163] 本来DNAは2本鎖の螺旋構造をしたものであるが、本実施の形態では、DNAサンプルとして、判別したいSNPs部位を含む約60塩基長の1本鎖DNAを準備する。なお、DNAの抽出方法や1本鎖化については本発明とは直接関係がないので、詳細説明は省略する。
- [0164] DNAコンジュゲート溶液は、前述したように、分離用DNAコンジュゲート、電解質の役目もするpH緩衝剤、及びMgCl<sub>2</sub>などのDNA結合力制御剤を含んだ物性である。
- [0165] 前記分離用DNAコンジュゲートは、6~12塩基長1本鎖DNAの5'末端に、高分子のリニアポリマーを共有結合させたものであり、該1本鎖DNAは、判別したいSNPs部位を含むDNAの正常型に対しては相補であるが、変異型に対しては相補ではない配列を含むものである。つまり、DNAコンジュゲート溶液には、正常型DNAに対しての結合力が強く、変異型DNAに対しての結合力が弱い特性がある。また、このDNAコンジュゲート溶液は、電気泳動させた場合に5'末端に結合したリニアポリマーがおもりとなり、泳動速度がかなり遅いという特性も有する。
- [0166] ここで、前記緩衝剤注入部113に注入されるDNAコンジュゲート溶液の具体的な作成方法の一例を示す。
- [0167] 分離用DNAコンジュゲートは、まず、DNAサンプルの塩基配列に相補的な塩基

配列を有するDNAの5'末端をアミノ化(通常は、ヘキシリ基を介してアミノ化)し、2.6mMになるように滅菌した超純水を加えて希釈する。次いで、MOSU(メタクリロイドオキシスクシンイミド)を71.388mMになるようにDMSO(ディメチルスルオキシド)で希釈する。そして、このようにして得たアミノ化DNAとMOSUを1:50の比率になるように加えて調整する。そしてこの後さらに、前記調整溶液に対して、pH調整用としてpH9になるように炭酸水素ナトリウムと水酸化ナトリウムで調整した溶液を、アミノ化DNAの量と等量加える。以上のようにして得られた溶液を一晩振とうし、その後、HPLC(High Performance Liquid Chromatography:高速液体クロマトグラフィー)を使用して、振とうした溶液中のビニル化DNAを、アミノ化DNA, MOSU, その他と分離する。ビニル化DNAは溶離液(TEAA;トリエチルアミノ一酢酸とアセトニトリルの混合溶液)を含んでいるため、さらに真空乾燥機能を持った遠心エバポレーターで減圧濃縮する。次いで、重合溶液である10%のAAM(アクリルアミド)を53  $\mu$  mol窒素置換する。さらに、重合開始剤である1.34%のTEMD(N, N, N'N' - テトラメチルエチレンジアミン)を超音波で脱気した滅菌超純水で希釈する。これを重合開始剤である1.34%のAPS(過硫酸アンモニウム)を同じく超音波で脱気した滅菌超純水で希釈する。さらに濃縮したビニル化DNAを滅菌した超純水で希釈する。そして、100  $\mu$  lの分離用DNAコンジュゲートを合成するために、前記のAAMを34  $\mu$  l、前記のTEMDとAPSを各々5  $\mu$  l、ビニル化DNAがAAMに対して0.01%モル～0.05%モルになるように加え、100  $\mu$  lになるように滅菌超純水を追加して、60分程度放置しておくとアクリルアミド化された分離用DNAコンジュゲートが得られる。そして、このようにして得た前記分離用DNAコンジュゲートに、pH緩衝剤やDNA結合力制御剤を加えてDNAコンジュゲート溶液を作製する。

[0168] 前述したようにして、DNAサンプルあるいはDNAコンジュゲート溶液の準備した後、該DNAサンプル及びDNAコンジュゲート溶液を、ピッパー等により定量をプレート10のDNA注入部124あるいは緩衝液注入部123に分注する。分注量は、流路パターンのスケールにより異なるが、例えばここでは、DNAコンジュゲート溶液は18マイクロリットル、DNAサンプルは2マイクロリットルとする。

[0169] (ステップS2)前記ステップS1において、プレート10の各注入口より、DNAコンジ

ュート溶液、あるいはDNAサンプルを注入した後、本装置100の電源スイッチ62をON状態にし、操作ボタン(図示せず)等を操作して、筐体60中から扉61を介してプレート保持部22を引き出し、該プレート保持部22上に、DNAコンジュゲート溶液Dc及びDNAサンプルDsが注入されたプレート10をセットする。そして、再度操作ボタンを操作して、該プレート保持部22を筐体60内に引き込ませるプレートローディングを行う。このステップS2の動作によりプレート保持部22が引き込まれると、プレート10は、開口部10aが高速回転モータ21のプレート受け部21aに嵌まる位置に自動的にセットされる。この状態の昇降ステージ50の位置を最下点とする。

[0170] (ステップS3)前述したようにプレート10が生体サンプル判別装置100内にローディングされると同時に、昇降ステージ50は、上下動モータ51によって、前記最下点から、プレート10がクランバ36に保持される位置である第1段目の位置まで上昇する。このとき、昇降ステージ50と共に、光学検出部40、高速回転モータ21、プレート確認センサ23、及び該高速回転モータ21のプレート受け部21aに嵌まっているプレート10は上昇するが、プレート保持部22は装置に固定されているため、移動しない。これにより、プレート10を、装置内のモータ等にプレートの重心を中心にして固定できる。

[0171] 図7(a)は、本実施の形態1の生体サンプル判別装置の昇降ステージが、前記第1段目の位置まで上昇したときの状態を示す図である。

[0172] 以下、前記プレート10がクランバ36に保持される状態になるまでの動きを詳細に示す。まず、プレート10が生体サンプル判別装置100内にローディングされると同時に、昇降ステージ50は上下動モータ51によって最下点から上昇を開始して、図1に示すように、高速回転モータ21のプレート受け部21aにプレート10の開口部10aが嵌まり込む。そしてこの後、昇降ステージ50が更に上昇して、前記プレート10は高速回転モータ21と一体化して上昇する。そして、昇降ステージ50がある位置まで上昇すると、該プレート10の上方にあるクランバ36の下面に設けられた磁石と、高速回転モータ21の金属で形成されたプレート受け部21aとが接続され、これによりプレート10がクランバ36に保持される。このように接続された時点で昇降ステージ50は停止し、この停止位置が、昇降ステージ50の第1段目の位置である。前記昇降ステージ50の第1段目の位置は、例えば、該昇降ステージ50の最下点から8mm上昇した位置で

ある。

[0173] (ステップS4～ステップS5)そして、前記昇降ステージ50が、前述したようにして第1段目の位置に移動した後、この第1段目の位置において、充填ユニット20により第1の流路116にDNAコンジュゲート溶液を充填する充填処理を行う。このとき、該充填処理を行う前に、まずプレート10が当該装置内にあるか否かを確認する。

[0174] このプレート10の有無の確認は、前記プレート確認センサ23で、プレート10下面に設けられたプレート確認マーク13を検出することにより行う。ここで、前記プレート10のプレート確認マーク13は、切り欠きやマーク等からなるものあり、例えば、ここではアルミテープをはる。そして、高速回転モータ21によってプレート10が回転される時に、反射型のフォトセンサ等であるプレート確認センサ23でプレート10の下面を測定する。このとき、プレート確認センサ23では、プレート確認マーク13であるアルミテープと、該アルミテープ以外の部分で図8に示すような出力信号の差が生じるため、出力信号に立ち上がりと立ち下がりがあればプレート10が存在し、一方、出力信号に立ち上がりと立ち下がりがなければプレート10が存在しないと判断する。

[0175] そして、プレート確認センサ23でプレート10が無いと判断されれば、この時点で動作を中止し、一方、プレート10が有ると判断されれば、例えば充填ユニット20の高速回転モータ21を予め決められた回転数、ここでは例えば約4000rpmで、約1～2分間高速回転させて、当該流路パターンの第1の流路116にDNAコンジュゲート溶液を充填させる。

[0176] 以下、図6(a)～(c)を用いて、流路パターン110中にDNAコンジュゲート溶液が充填されていく様子を説明する。

[0177] まず、プレート10が前記高速回転モータ21によって高速回転されると、図6(a)に示すように、流路パターン110中の緩衝剤注入部113に注入されたDNAコンジュゲート溶液が、該高速回転によって生じる遠心力により、図6(b)に示すように、前記緩衝剤注入部113から、第1の流路116の内周流路116aを移動して、それぞれ第1、第2の電極挿入部111, 112に到達する。そしてさらに、該第1、第2の電極挿入部111, 112から、第1の流路116の外周流路116bを移動して、最終的に、図6(c)に示すように第1、第2の電極挿入部111, 112と該外周流路116bに充填される。このD

NAコンジュゲート溶液は、外周流路116b中に元々存在していた空気がサンプルプール115の空気孔135より排出されるため、外周流路116b中に円滑に充填される。

[0178] ここで、前述したコンジュゲート充填処理において、前記第1の流路116の内周流路116a側にDNAコンジュゲート溶液が充填されないようにするには、前記第1、第2の電極挿入部111、112に電極を挿入して電圧を印加した際に、内周流路116a側で電気泳動が行うことのないようにするためである。従って、前記ステップS1において、緩衝剤注入部113に注入するDNAコンジュゲート溶液の量は、コンジュゲート充填処理後にDNAコンジュゲート溶液が内周流路116aに残らない程度の量であるが好ましい。また、後述するステップにおいて、外周流路116bとその一部の流路を共通にする定量部117aにDNAサンプルを流入させる必要がある。従って、前記緩衝剤注入部113に注入するDNAコンジュゲート溶液の量は、該定量部117aの流路が該DNAコンジュゲート溶液で充填されない量である必要があり、特に、図11の(1)～(4)に示すように定量部117aの流路の高さの半分以下に収まる量であることが好ましい。これは、DNAコンジュゲート溶液の量が定量部117aの流路の高さの半分以上を超えるとDNAコンジュゲート溶液が第2の流路117の方向へ溢れ出たりする問題が生じるからである。本実施の形態1では、DNAコンジュゲート溶液の量は約18マイクロリットル程度あればよい。

[0179] 一方、サンプル注入部114に注入されたDNAサンプルは、前述したような充填ユニット20によるコンジュゲート充填処理中に、前述した充填ユニット20による遠心力により第2の流路117を円周方向に移動して、第2の流路117の一部に分布される。DNAサンプルについても、外周流路116bあるいは第2の流路117中に元々存在していた空気が、サンプルプール115の空気孔135より排出されるため、第2の流路117の一部に円滑に分布される。

[0180] このとき、前記サンプル注入部114に注入される前記DNAサンプルの量が多ければ、充填ユニット20によるコンジュゲート充填処理において第1の流路116の外周流路116bにDNAコンジュゲート溶液が充填される前に、DNAサンプルが定量部117aに流れ込んでしまい、その結果、該外周流路116bにもDNAサンプルが流れてしまうこととなる。従って、前記サンプル注入部114に注入するDNAサンプルの量は、遠

心力によって前記外周流路116bにまで達しない量、つまり、図6(b), (c)に示すように第2の流路117の途中、具体的には、定量部に達しない位置(以下、「第1の流入位置」と称す。)E1で移動が止まる量を注入するようとする。

[0181] また、DNAサンプルは、第2の流路117全体に充填される量は必要なく、第2の流路117中の一部、すなわち、定量部117a部分に充填される量があればよいため、少量でよい。本実施の形態1では、DNAサンプルの量は約2マイクロリットル程度あればよい。

[0182] ここで、プレート10上に設けられた流路パターン110の形状の特徴を詳細に説明する。図9は、本実施の形態1のプレート上に形成された流路パターンの一例を示した図である。

[0183] DNAサンプルを、プレート10に設けられた流路パターン110の、外周流路116bの一部である泳動流路Cで電気泳動させて、正確な検出結果を得るためにには、前記外周流路116b中に気泡がかまないようにする必要がある。従って、本実施の形態1の流路パターン110には、DNAコンジュゲート溶液及びDNAサンプルを注入及び充填する際、あるいはDNAサンプルを定量する際、あるいはDNAコンジュゲート溶液に対して定量されたDNAサンプルを添加する際に、外周流路116b中に気泡が含まれないように様々な工夫がされている。

[0184] 以下、具体的に述べる。本流路パターン110の1つ目の特徴は、緩衝剤注入部113の形状と、その配置されている位置にある。

[0185] 本実施の形態1においては、図9に示すように、緩衝剤注入部113が第1の流路116より内周側に位置し、またその出口が2つに分岐され、DNAコンジュゲート溶液が内周流路116aの両端に分岐して移動するようにしている。これにより、DNAコンジュゲート溶液は、緩衝剤注入部113に注入されると前記プレート10の高速回転により生じる外周側への遠心力によって、緩衝剤注入部113の出口で2つに枝分かれして内周流路116aの両端に向かってスムーズに短時間で移動し、第1、第2の電極挿入部111, 112を通過して、外周流路116bの両端から充填されるため、前記外周流路116b中に気泡を含むことなく確実に充填させることができる。もちろん、緩衝剤注入部を第1の流路の両端に設け、2箇所からDNAコンジュゲート溶液を注入するよう

しても同様の効果が得られる。なお、本実施の形態1のように、前記緩衝剤注入部113を内周流路116a側に1箇所設け、該緩衝剤注入部113の出口を2つに枝分かれする形状を持たせているので、該DNAコンジュゲート溶液の注入を流路の両端から別々に行う必要がなくなり、第1の流路116の両端それぞれに緩衝剤を注入するタイミングや注入量を制御しなくてもよい効果が得られる。そして、これにより、DNAコンジュゲート溶液の注入タイミングや注入量を制御することにより生じる測定の誤差もなくすことができる。さらに、前記緩衝剤注入部113を第1の流路116に設ける場合、それを図9に示すように内周流路116aの中央に設けているので、DNAコンジュゲート溶液を外周流路116bに充填させる際、第1の流路116に対して該DNAコンジュゲート溶液が偏って注入等されることによる、外周流路116b中の気泡の発生も防ぐことができる。

- [0186] 2つ目の特徴は、第1、第2の電極挿入部111、112の配置位置にある。
- [0187] 本実施の形態1においては、図9に示すように、各電極挿入部111、112を、第1の流路116の放射方向の一部に設けている。これにより、遠心力によってDNAコンジュゲート溶液を充填する際に、該各電極挿入部111、112の内部に気泡が含まれないようになる。例えば、前記各電極挿入部111、112が第1の流路116の円周方向の一部に設けられると、第1の流路116に注入された液は遠心力によって放射方向に移動していくため、前記各電極挿入部内部に気泡が生じる可能性がある。
- [0188] 3つ目の特徴は、第1、第2の流路116、117の各コーナーRの大きさにある。
- [0189] 本実施の形態1においては、流路パターン110の第1、第2の流路116、117のコーナーRの曲率がすべて0.5以上であるように構成されており、こうすることで、プレートの回転により生じる外周側への遠心力によってDNAコンジュゲート溶液を充填する際に、該第1、第2の流路116、117のすべての角の部分に気泡が含まれないようになることができる。
- [0190] 4つ目の特徴は、内周流路116a形状にある。
- [0191] 本実施の形態1の内周流路116aは、図9に示すように、同心円弧状に形成されているのではなく、各電極挿入部111、112から遠ざかるにつれて、外周側にずれるように橢円円弧状に形成されている。これにより、DNAコンジュゲート溶液を第1の流

路116に充填する際に、途中でDNAコンジュゲート溶液が流れていかなかったり、気泡をかんだりすることを、プレートの高速回転により生じる遠心力によって防止することができる。さらに、内周流路116aの流路幅を、外周流路116bに比べて大きくしているので、緩衝剤注入部113から第1、第2の電極挿入部111、112にDNAコンジュゲート溶液を短時間で移動させて、気泡の抜けを良くできることに加え、DNAコンジュゲート溶液の充填処理時間を短くできる効果もある。

[0192] 5つ目の特徴は、第2の流路117のA部分の形状にある。

[0193] 本実施の形態1において、図9に示す第2の流路117に含まれる定量部117aは、第2の流路117の一部が外周流路116bの一部の流路と共通になっており、その共通流路部分において、一定量のDNAサンプルを定量すると同時に、該定量したDNAサンプルを外周流路116bに充填されたDNAコンジュゲート溶液に添加することができる。この第2の流路117中の定量部117aは、外周流路116bよりプレート10の内周側に配置されている。

[0194] 例えば、本実施の形態1においては、図9に示すように、プレート10の放射方向部分と円周方向部分とからなる略コの字形状にし、該コの字形状の円周方向部分に前記定量部117aを配置して、DNAコンジュゲート溶液と一定量のDNAサンプルとを、平行に接触させるようにしている。

[0195] さらに、本実施の形態1においては、第2の流路117のうち、サンプルプール115と前記定量部117a間の流路を短くしているので、DNAサンプルの定量添加処理の際に、サンプルプール115にDNAコンジュゲート溶液が流れ込むことを防止でき、また、第2の流路117に生じた気泡の抜けを良くすることができる。

[0196] また、本実施の形態1では、図9に示すようにサンプル注入部114が第2の流路117より内周側に位置しているので、該サンプル注入部114に注入されたDNAサンプルを第2の流路にスムーズに短時間で移動させることができる。

[0197] 6つ目の特徴は、外周流路116bのB部分の形状にある。

[0198] 本実施の形態1においては、図9に示すように、外周流路116bのB部分に折部を設けて、外周流路116bの両端からの流路の長さ調整をしている。例えば、外周流路116bの、第1の電極挿入部111から定量部117aまでの流路長さと、第2の電極挿

入部112から定量部117aまでの流路長さが極端に違う、例えば、B部分の長さが短いと、外周流路116bに気泡が発生する可能性がある。

[0199] 7つ目の特徴は、第1、第2の電極挿入部111, 112及びサンプルプール115に、それぞれ空気孔を設けていることにある。

[0200] 緩衝剤注入部113に注入されたDNAコンジュゲート溶液は、第1、第2の電極挿入部111, 112に設けられた空気孔131, 132により空気抜きができるため、高速回転による遠心力によって、外周流路116bに気泡をかむことなく充填させることができる。また加圧部24による加圧処理によって第2の流路116bに充填されたDNAサンプルは、前記サンプルプール115に設けられた空気孔135により空気抜きができるため、高速回転による遠心力によって、その分布領域を定量部117a部分とそれ以外の領域、例えばサンプルプール115やサンプル注入部114部分、にその分布域を分離させることができる。これにより、DNAコンジュゲート溶液に対して一定量のDNAサンプルを添加することができる。

[0201] 8つ目の特徴は、図3(c)に示すように、第1、第2の電極挿入部111, 112の電極挿入口121, 122にカバーフィルム15が貼られていることにある。

[0202] このようにすることにより、コンジュゲート充填処理においてプレートを高速回転させる際に、DNAコンジュゲート溶液が飛び散って、DNAコンジュゲート溶液が足りなくなり、外周流路116bにDNAコンジュゲート溶液が充填されなくなることを防止できる。

[0203] なお、緩衝剤注入部113、サンプル注入部114の注入口123, 124に、カバーフィルム15を貼る必要はない。その理由は、緩衝剤注入部113、サンプル注入部114のそれぞれの注入口123, 124が、図4に示すようにプレートの内周側に設けられているため、プレートを高速回転させると遠心力により各サンプルがプレートの外周側に移動するため、各注入部113, 114からDNAコンジュゲート溶液やDNAサンプルが飛び散ることがない。

[0204] (ステップS6)前述したステップS5において、以上のような特徴を有するプレート10にDNAコンジュゲート溶液あるいはDNAサンプルを注入し、充填ユニット20によるDNAコンジュゲート溶液の充填動作が終了した後、昇降ステージ50は、前記プレ

ト10と判別ユニット30とを嵌合させるために更に上昇する。ただし、前記判別ユニット30とプレート10とを嵌合させるためには、該判別ユニット30の嵌合ピン31を、プレート10の嵌合ピン孔11に挿入する必要があるため、プレート10の嵌合ピン孔11の位置を検出するために、プレート10の位置決めする必要がある。

[0205] そこで、本実施の形態1においては、図3(a)に示すようにプレート10の上面に位置決めマーク12を設けておき、位置決めマーク検出センサ35により該位置決めマーク12を検出して、判別ユニット30とプレート10とを嵌合できる位置を決定する。なお、充填ユニット20の高速回転モータ21がサーボタイプのモータであれば、コンジュゲート充填処理における高速回転後のプレート10の位置が限定できるため、プレート10の位置決めを行う必要はない。

[0206] この判別ユニット30による嵌合位置の検出方法は、前述ステップS4の動作と同様で、低速回転モータ38によって判別ユニット30を回転させる際に、例えば反射型センサー等である位置決めマーク検出センサ35でプレート10の上面を測定すると、位置決めマーク12であるマーク部と該マーク以外とで図8に示すような出力信号の差が生じるため、この立ち上がり立下りに注目して、判別ユニット30の位置決めを行う。ここで、判別ユニット30を低速回転モータ38により回転させて位置決めを行う時には、判別ユニット30は多くの構成要素が天井板37に設けられて、該判別ユニット30周辺にそれらのケーブル、チューブ類が束ねられて存在するため(図示せず)、前記ケーブル、チューブ類がからまないように、右・左方向へ半回転から3/4回転ほど順次回転して位置を検出した後、回転角度が少ない方向に回転して判別ユニット30の位置決めを行うようにする。

[0207] (ステップS7)以上のようにして、判別ユニット30を位置決めした後、前記プレート10と判別ユニット30とを嵌合するために、昇降ステージ50は、上下動モータ51により、図7(a)に示す第1段目の位置から、図7(d)に示す第2段目の位置まで上昇する。

[0208] 以下、図7(b)～図7(d)を用いて、前記プレート10が判別ユニット30と嵌合するまでの状態を詳細に説明する。

[0209] まず、プレート10の嵌合ピン孔11に、判別ユニット30の嵌合ピン31が挿入され始め(図7(b))、次にプレート10の第1、第2の電極挿入部111、112の電極挿入口12

1, 122に、前記判別ユニット30の電極32a, 32bが挿入され、プレート10の加圧待機孔136に加圧部24が接触した後(図7(c))、ヒータ33がプレート10と接触するまで上昇する(図7(d))。この結果、プレート10に、嵌合ピン31、電極32a, 32b、加圧部24、ヒータ33、及びサーミスタ34が押し付けられる状態となり、判別ユニット30とプレート10とが嵌合された状態となる。従って、図7(d)に示すように、判別ユニット30とプレート10とが嵌合される昇降ステージ50の位置が、第2段目の位置となる。該昇降ステージ50の第2段目の位置は、例えば図7(a)に示す第1段目の位置から6. 8mm上昇した位置である。

[0210] そして、昇降ステージ50が第2段目の位置まで上昇して、プレート10と判別ユニット30の各構成要素とが嵌合された後、サーミスタ34で外周流路116bの温度を測定して、該測定結果に応じてヒータ33を制御しながら、外周流路116bの温度を所定の温度に保つようとする。ここで、外周流路116bの温度を所定の温度にする理由は、光学検出部40にて流路内の吸光度、蛍光度の検出を行う際に、その温度条件を一定にする必要があるためであり、この所定の温度としては、室温より高い一定温度であればよい。そして、前記所定の温度は、充填させるDNAコンジュゲート溶液や、該DNAコンジュゲート溶液に添加するDNAサンプルに応じて決定されるものであり、例えばDNAサンプルが40—60塩基で、なお且つ、検出対象である目的DNAと相補的関係をもつ配列を有するDNAコンジュゲート溶液のDNA配列が6—8塩基の場合、外周流路116bの温度は25度—45度が好ましい。そして、この外周流路116bの温度制御は、天井板37に設けられたサーミスタ34により行う。

[0211] このときの外周流路116bに対する、ヒータ33及びサーミスタ34の設置位置は、例えば、図10(a)に示すように、ヒータ33を外周流路116bの真上に、またサーミスタ34をヒータ33の横で、且つ図中の距離L1, L2が同じになる位置に配置し、ヒータ33を外周流路116bの真上に押し当てて加熱を無駄なく行い、サーミスタ34によりプレート10の温度を測定して、その測定結果より外周流路116bの温度を推測して、ヒータ33の制御を行うものであってもよいし、図10(b)に示すように、ヒータ33を外周流路116bの横で、且つ図中の距離L1, L2が同じになる位置に、またサーミスタ34を該外周流路116bの真上に配置して、サーミスタ34により外周流路116bの正確な温

度を測定しながら、ヒータ33の制御をするようにしてもよい。さらに、ヒータ33上に設けられたヒータ温度検出センサ(図示せず)においてヒータの温度上昇を測定していく、予めヒータ33からプレート10への熱伝達量を測定しておく、プレート10とヒータ33との温度差を測定して外周流路116bの温度制御を行うようにしてもよい。

[0212] (ステップS8)以上のようにヒータ33を制御して、外周流路116bを所定の温度にした後、前記高圧電源66より供給された電圧を、天井板37に設けられた電極32a, 32bに印加して、コンジュゲート精製処理を行う。このとき、外周流路116bへの印加電圧としては、約0.5KVから5KV程度が考えられるが、好ましくは1KVから1.5KVである。

[0213] なお、前記ステップS7においてDNAコンジュゲート溶液に対して電圧を印加し、コンジュゲート精製処理をするのは、DNAコンジュゲート溶液を作成する際に生じた不具合(DNAコンジュゲート溶液中に含まれる未反応のDNAや分子量の小さいコンジュゲート)を除去し、純粋なDNAコンジュゲート溶液を得るためである。そして、この時除去された未反応のDNAや分子量の小さいコンジュゲートは、正電極が挿入される第2の電極挿入部112まで移動して、保持される。

[0214] (ステップS9～ステップS12)前述したコンジュゲート精製処理の終了後、充填ユニット20によって、前記ステップS5で第2の流路117の第1の流入位置E1まで分布されたDNAサンプルを、定量部117aを含む第2の流入位置E2まで分布させる。

[0215] この処理は、例えば加圧部24を、サンプル注入部114の注入口124に接触させ、該注入口124からサンプル注入部114に保持されたDNAサンプルに圧力をかけることにより行う。

[0216] 従って、本実施の形態1においては、前記加圧部24の位置を、現在位置する加圧待機孔136上から、注入口124上にもってくるために、一度昇降ステージ50を第2段目の位置から第1段目の位置に下降させ、低速回転モータ38により判別ユニット30をすこし回転、ここでは約10度回転させた後、昇降ステージ50を第2段目の位置に上昇させる。このようにすれば、昇降ステージ50を第2段目の位置に上昇させて加圧処理を行う際に、前記加圧部24をサンプル注入部114の注入口124に接触させることができる。

[0217] なおこのとき、前記電極32a, 32bも同時に回転するため、該電極32a, 32bは、第1, 第2の電極挿入部111, 112と同心円上に設けられた第1, 第2の電極待機孔118, 119に挿入して待機させる。

[0218] そして、前記電極32a, 32bを第1, 第2の電極待機孔118, 119に待機させた状態で、加圧部24によって、DNAサンプルが保持されているサンプル注入部114を加圧する。

[0219] この加圧処理により、図6(b), (c)に示すように、前記ステップS5のDNAコンジュゲート溶液の充填処理では、第2の電極挿入部112から第2の流路117の円周方向にしか遠心分布されなかつたDNAサンプルを、図6(d)に示すように、該第2の流路117の放射方向に移動させ、その一部をサンプルプール115まで移動させて、DNAサンプルを第2の流路117に充填させることができる。

[0220] そして前記ステップS12による加圧処理の後、昇降ステージ50を第2段目の位置から第1段目の位置に下降させ(ステップS13)、充填ユニット20によって、前記第2の流路117に充填されたDNAサンプルを定量部117aに残すように分離させて、前記DNAコンジュゲート溶液が充填されている外周流路116bの一部に、遠心力によって一定量のDNAサンプルを添加する(ステップS14)。

[0221] 例えはここでは、充填ユニット20の高速回転モータ21でプレート10を所定の回転数で所定時間、ここでは約4000rpmで、およそ10秒回転させることで、図6(d)に示すようにサンプル注入部114とサンプルプール115間の第2の流路117に充填されていたDNAサンプルを、高速回転により生じる遠心力によって、図6(e)に示すように定量部117a部分にのみ残す。このようにすることで、一定量のDNAサンプルを、外周流路116bに充填されたDNAコンジュゲート溶液中に添加することが可能となる。

[0222] 以上に記載したDNAサンプルの移動状態を、図11中の(1)～(4)に示した。図11中の(1)はDNAコンジュゲート溶液の充填処理終了後の状態で、DNAコンジュゲート溶液が充填されている領域にはDNAサンプルは無く、第2の流路117の第1の流入位置E1で移動が止まり、DNAサンプルは第2の流路117に遠心分布された状態にある。そしてこの後、加圧部24による加圧処理がなされると、図11中の(2)に示すよう

に、第2の流路117に遠心分布された状態のDNAサンプルが、図11中の(3)に示すように、サンプルプール115まで移動して、DNAサンプルが第2の流路117に充填される。そしてこの後、高速回転モータ21によりプレート10を高速回転させると、図11中の(4)の状態となり、第2の流路117の定量部117aにおいて、一定量のDNAサンプルがDNAコンジュゲート溶液に平行に接して、添加された状態となる。

[0223] (ステップS15)この後、判別ユニット30による測定動作を行うために、上下動モータ51によって、昇降ステージ50を第1段目の位置から第2段目の位置に上昇させる必要があるが、このとき、前記ステップS7の処理と同様にして、前記プレート10の上面に設けられた位置決めマーク12を、位置決めマーク検出センサ35により検出して、プレート10の位置決めを行う。この際の具体的な動作については、前述したステップS6の動作と同様であるため説明は省略する。

[0224] (ステップS16～ステップS17)プレート10の位置決めの後、上下動モータ51により昇降ステージ50を第2段目の位置まで上昇させて、天井板37の嵌合ピン31をプレート10の嵌合ピン孔11に挿入して、天井板37とプレート10とを嵌合させる。これにより、ヒータ33は外周流路116b上に、また電極32a, bは電極挿入部111, 112に挿入される。そして、ヒータ33により外周流路116bを所定の温度に加熱し、高圧電源66により供給された電圧を電極32a, 32bに数百Vの電圧を印加させて、DNAサンプルを、DNAコンジュゲート溶液が充填された外周流路116b中で電気泳動させる。このとき、外周流路116b、さらには第2の流路117に含まれる定量部117aにおいて電界が発生し、定量部117aに一定量残存したDNAサンプルDsは、外周流路116b中を正電極の電極挿入部112側へ泳動する。そして、そのDNAサンプルの泳動状態を、前記外周流路116bの吸光度、あるいは蛍光度を光学検出部40により検出する光学検出処理を行う。

[0225] このときのDNAサンプルの状態を、図11中の(5)～(8)に示した。図11中の(5)～(8)は電圧印加が開始され、DNAサンプルが外周流路116bに充填されたDNAコンジュゲート溶液中を電気泳動していく様子を示している。

このように、DNAサンプルをDNAコンジュゲート溶液中に攪拌混合させず、DNAコンジュゲート溶液と平行に接触させただけでも、外周流路116bに対して電圧を印加

してやれば、DNAサンプルはDNAコンジュゲート溶液の内部を電気泳動によって移動していく。

[0226] 光学検出部40による吸光度、あるいは蛍光度の検出は、天井板37と嵌合状態のプレート10を、昇降ステージ50上の光学検出部40に対して、低速回転モータ38で回転させ、外周流路116bの泳動流路Cの部分の吸光度、あるいは蛍光度を、所定時間おきに、例えばここでは測定開始から1分経過おきに、検出して行う。なお、測定中であることを示すために、前記電極32a, 32bに対する電圧印加と同時に、第2のLED(図示せず)を点灯させるようにすれば、測定中に誤って装置100の扉61を開けるのを防止することができる。

[0227] また、前記光学検出部40による吸光度、あるいは蛍光度の検出は、低速回転モータ38により、嵌合されたプレート10と天井板37を、約1回転させた後、逆回転して初めの位置に戻るという動作を繰り返し、回転中に流路パターン110の外周流路116bの泳動流路Cを、光学検出部40によりスキャンさせ、該泳動流路Cの吸光度あるいは蛍光度を測定する。このときの光学検出部40による泳動流路Cのスキャン方向は、DNAサンプルがDNAコンジュゲート溶液中を泳動する方向のみ行い、反対方向については行わない。

[0228] 図12は、本実施の形態1の生体サンプル判別装置において、吸光度(260nm)を利用して泳動流路C中のDNAサンプルを検出した場合の検出結果を示す図である。ここでは、10mMのTris-Borate緩衝液にDNA結合制御剤として0.5mMの塩化マグネシウムを添加した溶液と分離用DNAコンジュゲート(コンジュゲート5'-TAACGGT-3')とを混合したDNAコンジュゲート溶液を外周流路116に充填し、該外周流路116にミュータントDNA(5'-ATGTGGAACCTTACTAAAG-3')とワイルドDNA(5'-ATGTGGAACCGTTACTAAAG-3')とを含む標識したDNAサンプルを注入して、外周流路116bの泳動流路C中を電気泳動させている。

[0229] 図12において、横軸はDNAサンプルが外周流路116b中の泳道流路Cを泳動する距離を示している。図12では、DNAサンプルはグラフの左から右へ泳動している。つまり、図12中の左側が外周流路116bの泳道流路Cの定量部117a側で、右側が泳道流路Cの正電極挿入部112側である。また、縦軸は吸光度を示し、上から1分毎

に計時変化した波形を表している。

[0230] 図12をみると、一つの山が徐々に2つの山に分離していく様子がわかる。この波形図により、検体であるDNAサンプル中に、ほぼ同量の正常型DNAと変異型DNAとが存在していることが判別できる。

[0231] DNAサンプル中にミュータントDNA(正常型DNA)が含まれていれば、該ミュータントDNAは、図13に示すように、該ミュータントDNAと相補関係をもつ配列を有する分離用DNAコンジュゲートに捕捉されてワイルドDNA(異常型DNA)より泳動速度が遅くなり、この結果、光学検出部40において泳動流路Cの吸光度を検出した際に、図12に示すようにワイルドDNAとミュータントDNAとが分離された状態となり、吸光度のピークが2つ現れる。一方、DNAサンプルにミュータントDNAが含まれていなければ、吸光度のピークは一つしか現れない。これにより、DNAサンプルにミュータントDNAが含まれているか否かを判別することが可能となる。

[0232] 図12の場合は、グラフ右側の山のほうが泳動速度が速いので変異型DNA、左側のほうが泳動速度が遅いので正常型である。

[0233] さらに、本実施の形態1の生体サンプル判別装置において、プレート10を低速回転モータ38で回転させて外周流路116bの泳動流路C全体の吸光度を測定するのではなく、外周流路116bの泳動流路Cのある一点における吸光度を測定することも可能である。

[0234] また、吸光度を測定するのではなく、DNA末端に蛍光物質(例えばCy5, FITCなど)を修飾して蛍光で検出する方法もある。

[0235] ここで、吸光度あるいは吸光度を測定する際に、常に正確な結果を得るために、前記光学検出部40で泳動流路Cの一点において吸光度を測定するのではなく、図12に示したように、プレート10を低速回転モータ38で低速回転させ、光学検出部40で該泳動流路C全体をスキャンして、泳動流路C全体の吸光度を所定の時間経過おきに測定するようにしたほうが好ましい。この理由は、例えば、測定対象のDNAサンプルが、吸光度が測定されない位置では、該DNAサンプルに含まれるワイルドDNAとミュータントDNAとに速度差があり、吸光度が測定される一点において、前記ワイルドDNAとミュータントDNAとの速度差がなくなってしまうような場合があるからであ

る。

[0236] 従って、光学検出部40で泳動流路C全体を所定時間経過毎にスキャンして、蛍光度あるいは吸光度を測定するようすれば、常に正確な結果を得ることができる。

[0237] (ステップS18)前述のようにして、外周流路116bを光学検出部40により任意の回数、ここでは9回スキャンして、測定が終了すると、高压電源66による電極32a, 32bの電圧印加を停止し、ヒータ33の加熱も停止して、プレート10がプレート保持部22上に保持できる位置になるように、低速回転モータ38で、プレート10を天井板37と共に回転させる。

[0238] (ステップS19)そして、前記位置が決定後、昇降ステージ50を、第2段目の位置から第1段目の位置まで下降させ、その位置においてクランバ36とプレート受け部21aとを解離させた後、さらに最下点に下降させて、プレート10をプレート保持部22上に保持させる。この時点で、プレート10が当該生体サンプル判別装置100より排出できる状態となる。

[0239] 以上のように、本実施の形態1によれば、生体サンプル判別装置100の充填ユニット20により遠心力を用いて外周流路116bにDNAコンジュゲート溶液を充填させ、且つDNAサンプルを加圧して遠心力により該DNAコンジュゲート溶液に定量添加した後、判別ユニット30に設けられた電極32a, 32bに電圧を印加して電気泳動させ、該判別ユニット30によりプレート10を所定時間毎に数回低速回転させて、光学検出部40により外周流路116bの泳動流路部分全体を所定回数スキャンさせ、泳動流路部分の吸光度、あるいは蛍光度を測定するようにしたので、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプル中に含まれる検出対象である目的DNAの存在を、煩雑な準備作業が必要なキャピラリー管を使うことなく正確且つ短時間に判別することが可能となり、種々の病気の判別やDNA異常の研究を正確且つ迅速に行える。

[0240] また、本実施の形態1の生体サンプル判別装置100によれば、昇降ステージ50を上下動モータ51によって第1段目の位置と第2段目の位置との間を移動させることでプレート10を上下に移動させ、第1段目の位置では充填ユニット20によるサンプルの充填処理を行い、第2段目の位置では、判別ユニット30による光学検出処理を行うよ

うにしたので、生体サンプル判別装置を小型化して、軽量化することが可能となる。

[0241] なお、本実施の形態1においては、生体サンプルがDNAサンプルであり、該DNAサンプルにミュータントサンプルが含まれているか否か、すなわちSNPsの有無を判別する場合を例に挙げて説明したが、本装置はこのような使用に限られるものではなく、抗原抗体反応や、酵素反応にも応用が可能である。

[0242] なお、本実施の形態1においては、ステップS5の、第1の流路116にDNAコンジュゲート溶液を充填処理する際、充填ユニット20の高速回転モータ21でプレート10を高速回転させ、その高速回転によって生じる遠心力により、DNAコンジュゲート溶液を流路中に充填させるようにしたが、遠心力以外にも、例えば、緩衝液注入部123をポンプなどにより加圧したり、あるいはサンプルプール115の空気孔135からポンプなどによってDNAコンジュゲート溶液を吸引したり、或いはDNAコンジュゲート溶液自体の毛細管現象を利用することによって、DNAコンジュゲート溶液を流路中に充填させてもよい。

[0243] そして、前述したように、吸引によりDNAコンジュゲート溶液を流路中に充填させる場合、例えば、装置100内の加圧ポンプ部52を、加圧と吸引が可能なポンプシステムとし、ポンプチューブ53を介して該加圧部24で吸引処理を行えるようにすれば、装置に新たな吸引部を設けずとも吸引処理を実現することができる。

[0244] また、前記ステップS12において、DNAサンプルを充填ユニット20によって、第2の流路117の第1の流路位置E1から第2の流入位置E2までの移動させる際、DNAサンプルを注入する注入口124を加圧部24で一定時間加圧する場合を一例に挙げたが、加圧処理以外にも、例えば、前記同様、加圧ポンプ部52を加圧と吸引が可能なポンプシステムとしておき、前記注入口124や、サンプルプール115の空気孔135を加圧部24で吸引したり、さらにはDNAサンプルの毛細管現象を利用することによっても実現できる。

[0245] さらに、前記ステップS14において、DNAサンプルをDNAコンジュゲート溶液に一定量添加する際、プレート10を高速回転させ、それにより生じる遠心力によって定量部117a部分にだけDNAサンプルを残すことで、DNAサンプルを定量添加する場合を一例に挙げたが、遠心力以外にも、例えば、第2の流路117に充填されたDNA

サンプルを、注入口124、あるいはサンプルプール115の空気孔135を、前記加圧部24で吸引することでも実現できる。具体的には、加圧部24により、第2の流路117の第2の流入位置E2まで移動したDNAサンプル(図6(d)参照)を、例えば一定量のDNAサンプルが定量部117aに残るように、サンプルプール115の空気孔135から吸引して移動させて、DNAサンプルを分離させる。なおこの場合、加圧ポンプ部52の吸引によって、定量部117aに残存すべき一定量のDNAサンプルや、第1の流路中にあるDNAコンジュゲート溶液が吸引されてしまうことを回避するために、DNAコンジュゲート溶液とDNAサンプルとの粘度調整を予め施す必要がある。

[0246] このように、DNAサンプルの定量を、吸引処理によって行なうようにすると、プレート10を高速回転させ、遠心力により定量部117a以外のDNAサンプルの移動が速くなり、この結果、DNAサンプルの一定量を、より短時間でDNAコンジュゲート溶液が充填された外周流路116b中に添加することが可能となる。

[0247] よって、第2の流路117の定量部117aに、一定量のDNAサンプルを定量添加する際、ステップS5のDNAサンプルが第2の流路117の第1の流入位置E1にある状態(図6(c))からステップS14のDNAサンプルが定量添加された状態(図6(e))にするのに、加圧部24を用いて、サンプルプール115の空気孔135を吸引して行なうことも可能である。このように、DNAサンプルの定量部117aへの充填は、第2の流路117のサンプル注入部114内とサンプルプール115内との圧力差によって行なうものであるため、加圧部24によりサンプル注入部114の注入口124を加圧することでも行なうことも可能である。

[0248] また、本実施の形態1では、第2の流入位置E2をサンプルプール115内部としたが、DNAサンプルは定量部117aに充填されればよいため、第2の流入位置E2は、定量部117aを充填する位置であればよく、サンプルプール115に達しなくともよい。

[0249] また、本実施の形態1においては、プレート10に流路パターン110が1つ形成されているとして説明したが、図14に示すように、プレート10に同じパターンを4つ形成して、一度に4つの異なるDNAサンプルのSNPsを検出するようにしてもよい。この場合、天井板37に設けられた電極32a, 32b、ヒータ33、加圧部24、サーミスタ34が各々4つづつ必要となる。このようにプレート上に4つの流路パターン110を設けた場合

には、判別ユニット30にて測定動作を行う際に、各流路パターン110における測定のタイムラグ分を考慮して、高圧電源66により各パターンに挿入される電極32a, 32bに対する電圧の印加を、パターン毎にずらすようとする。このようにすることにより、測定時のデータの電気泳動時間を、すべてのパターンで同一にすることが出来る。なお、測定する繰り返し回数は、使用者の要求によって設定が可能である。

[0250] また、図14に示すように、プレート10に複数の流路パターン110を形成する場合には、該各流路パターン110に対し、同一の人間のSNPsでなく、多数の異なる人間のDNAサンプルを添加して、SNPsの判別に利用することができる。

[0251] 例えば、すべてのパターンに同一のDNAコンジュゲートを充填しておいて、プレート10に形成された流路パターンの数分の異なる人間のDNAサンプルを、該流路パターンそれぞれに注入すれば、1回の測定で同一のSNPsの判別が多人数に対して可能となり、SNPs毎の分布状況に関する情報を一度に入手できる。

[0252] なお、本実施の形態1においては、プレート10の外周流路116bを所定の温度に制御するために、ヒータ33を設けて該外周流路116を一定の温度になるよう加熱するようにしたが、前記外周流路116bが一定の温度になればよいため、例えば前記ヒータ33の代わりにペルチェ素子等を設けるようにし、該外周流路116bの温度に応じて、冷却したり加熱したりして、一定の温度になるよう制御するものであってもよい。

[0253] また、本実施の形態1においては、ステップS7において緩衝剤注入部113に注入されたDNAコンジュゲート溶液の精製処理を行う場合について説明したが、該DNAコンジュゲート溶液の作成時に精製処理まで行った後、緩衝剤注入部113に注入するようにしてもよい。このように、DNAコンジュゲート溶液の作成時に、未反応のビニル化DNAを除去するなどの精製処理まで行う場合は、セロファンなどの透析膜の内部に、作成したDNAコンジュゲート溶液を入れて密封し、大量の超純水の中で透析膜を回転させて、内部の未反応DNAを除去する。これにより、純度の高いDNAコンジュゲート溶液が得られる。

[0254] そしてこのようにDNAコンジュゲート溶液の作成時に精製処理まで行った場合は、判別ユニット30によるコンジュゲート精製処理を行う必要がないため、ステップS6において判別ユニット30でプレート10の嵌合位置の検出後、ステップS10に移行する

。

[0255] さらに、本実施の形態1においては、電気泳動により生体サンプルであるDNAサンプルが緩衝剤であるDNAコンジュゲート溶液中を移動する場合を例に挙げ、判別ユニット30に電極32a, 32bを、またプレート10上に該電極を挿入する電極挿入部111, 112を設けるものとして説明したが、電気泳動により移動させない場合は、判別ユニット30の電極32a, 32b、及びプレート10上の電極挿入部111, 112、電極待機孔118, 119が必要ないことはいうまでもない。

[0256] (実施の形態2)

以下、図15～図18を用いて、本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置について説明する。

[0257] 前記実施の形態1の生体サンプル判別装置100においては、プレートに設けられた流路パターン中を加熱するヒータと、該流路の温度を測定するサーミスタを、判別ユニット30の天井板から吊り下げるようにして設けるようにしたが、本実施の形態2においては、これらをプレート上に設けるようにしたるものである。

[0258] 図15は、本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置の構成図である。図15に示すように、本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置200は、判別ユニット30に設けられていたヒータ33の代わりに、プレート10に対して所定の電圧を印加するヒータ接点ピン233を設け、また、判別ユニット30に設けられていたサーミスタ34の代わりに、プレート10に対して所定の電圧を印加するサーミスタ接点ピン234を設けた。そのほかの構成は、前記実施の形態1と同様であるため、ここでは説明を省略する。

[0259] 図16は本実施の形態2にかかるプレートの断面を示す図である。本実施の形態2にかかるプレート10には、図16に示すように、外周流路116b上に、ヒータの代わりとなる熱線あるいは回路(ここでは、ヒータ電極薄膜)141、及びサーミスタ142が埋め込まれ、前記生体サンプル判別装置200の判別ユニット30に設けられたヒータ接点ピン233、及びサーミスタ接点ピン234が、前記ヒータ電極薄膜141、及びサーミスタ142に接触して電圧を印加することで、ヒータ電極薄膜141は前記外周流路116bを所定の温度に加熱し、サーミスタ142は、該外周流路116bの温度を測定してヒータ

電極薄膜141に印加する電圧を制御する。なお、プレート10の流路パターン110の構成は、前記実施の形態1と同様である。

[0260] このように、判別ユニット30に設けていたサーミスタ、及びヒータを、プレート10に設けるようにし、前記判別ユニット30には、サーミスタ接点ピン234、及びヒータ接点ピン233を設けて、プレート10に対して所定の電圧を印加するようにしたので、本装置200をよりコンパクトにすることができる。

[0261] 以下、本実施の形態2にかかる生体サンプル判別装置200の動作を説明する。

(ステップS1) まず、シリンジによる手作業で、プレート10に設けられた流路パターン110の緩衝剤注入部113、サンプル注入部114に、注入口123、124からそれぞれDNAコンジュゲート溶液、DNAサンプルを注入する。

[0262] (ステップS2) そして、操作ボタン(図示せず)等を操作して、本装置200のプレート保持部22上に、サンプル注入されたプレート10をセットした後、プレートローディングを行う。このプレートローディングされたときの昇降ステージ50の位置を最下点とする。

[0263] (ステップS3～ステップS5) そしてこの後、昇降ステージ50は、上下動モータ51により第1段目の位置まで上昇し、その第1段目の位置で、高速回転モータ21によるコンジュゲート充填処理が行われる。このコンジュゲート充填処理については前記実施の形態1で説明したのと同様であるため、ここでは説明を省略する。

[0264] (ステップS6～ステップS7) 前記コンジュゲート充填処理が終了後、判別ユニット30に設けられた位置決めマーク検出センサ35により、プレート10と判別ユニット30との嵌合位置を検出し、検出後に昇降ステージ50が第2段目の位置まで移動する。

[0265] 以下、前記プレート10が判別ユニット30と嵌合するまでの状態を詳細に説明すると、まず、プレート10の嵌合ピン孔11に、判別ユニット30の嵌合ピン31が挿入され始め、次にプレート10の第1、第2の電極挿入部111、112の電極挿入口121、122に、前記判別ユニット30の電極32a、32bが挿入され、プレート10の加圧待機孔136に加圧部24が接触した後、プレート10に設けられたヒータ電極薄膜141及びサーミスタ142と、判別ユニット30に設けられたヒータ接点ピン233と、サーミスタ接点ピン234とが接触するまで上昇する。この結果、プレート10に、嵌合ピン31、電極32a、32b

b、加圧部24、ヒータ接点ピン233、及びサーミスタ接点ピン234が押し付けられる状態となり、判別ユニット30とプレート10とが嵌合された状態となる。従って、この判別ユニット30とプレート10とが嵌合される昇降ステージ50の位置が、第2段目の位置となる。

[0266] そして以上のようにして、昇降ステージ50が第2段目の位置まで上昇して、プレート10と判別ユニット30の各構成要素とが嵌合された後、ヒータ接点ピン233によりプレート10に埋設されたヒータ電極薄膜141に電圧を印加し、プレート10に埋設されたサーミスタ142で外周流路116bの温度を測定してヒータ電極薄膜141に印加する電圧を制御しながら、該外周流路116bを所定の温度に加熱する。なお、前記実施の形態1において述べたように、プレート10に設けるのはヒータ電極薄膜141に限るものではなく、外周流路116bの温度を一定温度にできるものであればなんでもよい。例えば、加熱するのみではなく、ペルチェ素子のような、冷却も加熱も可能な回路をプレート10に埋め込んでもよい。

[0267] (ステップS8)以上のようにして、外周流路116bを所定の温度にした後、前記高圧電源66より供給された電圧を天井板37に設けられた電極32a, 32bに印加して、コンジュゲート精製処理を行う。

[0268] (ステップS9～ステップS12)前述したコンジュゲート精製処理の終了後、充填ユニット20により、第2のサンプル注入部114に対して加圧処理がなされ、DNAサンプルを第2の流路117に充填させる。

[0269] (ステップS13～ステップS14)そしてこの後、上下動モータ51により、昇降ステージ50を第2段目の位置から第1段目の位置に下降させ、充填ユニット20にて、前記DNAコンジュゲート溶液が充填されている外周流路116bの一部に、一定量のDNAサンプルを添加する定量添加動作を行う。

[0270] (ステップS15)そして、判別ユニット30による測定動作を行うために、上下動モータ51によって、昇降ステージ50を第1段目の位置から第2段目の位置に上昇させるために、プレート10の上面に設けられたプレート確認マーク13を、位置決めマーク検出センサ35により検出して、判別ユニット30とプレート10とが嵌合可能な位置を決定する。

[0271] (ステップS16～ステップS17)位置決めの後、上下動モータ51により昇降ステージ50を第2段目の位置まで上昇させて、天井板37と嵌合させた後、ヒータ接点ピン233によりヒータ電極薄膜141に電圧が印加されることにより外周流路116bを所定の温度に加熱し、高圧電源66により供給された電圧を電極32a, 32bに印加させて、DNAサンプルをDNAコンジュゲート溶液が充填された外周流路116b中で電気泳動させ、その外周流路116bの吸光度、あるいは蛍光度を光学検出部40により検出する光学検出処理を行う。

[0272] (ステップS18)以上に示した外周流路116bを光学検出部40により任意の回数スキャンして、測定が終了すると、高圧電源66による電極32a, 32bの電圧印加を停止し、ヒータ33の加熱も停止して、プレート10がプレート保持部22上に保持できる位置になるように、低速回転モータ38で、プレート10を天井板37と共に回転させる。

[0273] (ステップS19)そして、前記位置が決定後、上下動モータ51により昇降ステージ50を、第2段目の位置から第1段目の位置まで下降させ、その位置においてクランプ36とプレート受け部21とを解離させた後、さらに最下点に下降させて、プレート10をプレート保持部22上に保持させる。この時点で、プレート10が当該生体サンプル判別装置200より排出できる状態となる。

[0274] 以上のように、本実施の形態2によれば、プレート10にヒータ電極薄膜141及びサーミスタ142を埋め込み、生体サンプル判別装置200の判別ユニット30に、ヒータ接点ピン233及びサーミスタ接点ピン234を設け、該プレート10のヒータ電極薄膜141に対して、ヒータ接点ピン233により所定の電圧を印加して、外周流路116bを加熱し、また、プレート10のサーミスタ142に対して、サーミスタ接点ピン234により所定の電圧を印加して、外周流路116bの温度を測定して、ヒータ電極薄膜141を制御するようにしたので、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプル中に含まれる検出対象である目的DNAの存在を、煩雑な準備作業が不要なキャピラリー管を使うことなく正確且つ短時間に判別することが可能な本生体サンプル判別装置200をより小型化し、軽量化することができる。

[0275] なお、前記説明においては、プレート10上にヒータ電極薄膜141及びサーミスタ142を設ける場合を説明したが、さらに図18に示すように、プレート10の第1, 第2の電

極挿入部111, 112中に、第1, 第2の電極143a, 143bを設けるようにしても良い。このようにした場合、生体サンプル判別装置側では、判別ユニット30に設けられていた電極32a, 32bの代わりに、図17に示すように、プレート10に設けられた各電極143a, 143bに電圧を印加する電極接点ピン232a, 232bを設けるようにすればよい。このように構成すれば、本生体サンプル判別装置200を、さらに小型化、軽量化し、且つ安価にすることができます。

[0276] また、本実施の形態2においても、前記実施の形態1と同様、加圧ポンプ部52を、加圧と吸引が可能なポンプシステムとし、ポンプチューブ53を介して該加圧部24で吸引処理を行えるようにし、該吸引処理により、DNAサンプルの定量処理、及びDNAサンプルを充填及び定量処理することができ、これにより、より短時間でDNAサンプルを定量し、DNAコンジュゲート溶液中に一定量のDNAサンプルを添加することができる。

[0277] (実施の形態3)

以下、図19～図21を用いて、実施の形態3にかかる生体サンプル判別装置について説明する。

本実施の形態3においては、電極挿入部に挿入する電極を待機させる間に、各電極を洗浄するようにしたものである。

[0278] 図19は、本実施の形態3におけるプレート上に設けられた第1の電極挿入部と第1の電極待機孔の構成を詳細に示す図であり、図20は、本実施の形態3における別の構成を有するプレート上に設けられた第1の電極挿入部付近を詳細に示す図であり、図21は、本実施の形態3における検出ユニットの構成を示す図である。なお、以下の説明においては、説明を簡略化するために、第1の電極挿入部のみを例に挙げて説明するが、もちろん第2の電極挿入部についても同様の構成を持たせて同時に洗浄するものである。

[0279] まず1つ目の方法としては、図19に示すように、前記第1電極待機孔118に、電極を洗浄する洗浄液を保持する方法である。このように、第1の電極待機孔118に洗浄液を保持するようにすれば、図5のステップS12において、加圧部24により第2のサンプル注入部114が加圧され、電極32が第1の電極待機孔118に挿入されて待機

している間、該電極32を第1の電極待機孔118中に保持された洗浄液で洗浄することができる。このようにすれば、コンジュゲート精製時に、もしくは本装置100, 200保管時に、該電極32に付着したごみ等の異物を洗い流すことができる。

[0280] 次に、2つめの方法としては、図20に示すように、プレート10の電極32が挿入される第1の電極挿入部111と同心円上であって、流路が形成されていない部分に、電極待機孔118の代わり、フェルトや細い起毛が一箇所に多数存在する洗浄領域16を設ける方法である。このような洗浄領域16を、プレート10上に設けるようにすれば、図5のステップS10において測定モータ38により判別ユニット30を回転させて、電極32を待機させる際に、該洗浄領域16の部分に対して、該電極32を突き刺したり、或いは突き刺した後若干の回転を加えたりすることによって、該電極32を洗浄することが可能となり、これにより、コンジュゲート精製時に、もしくは装置100, 200保管時に、該電極32に付着したごみ等の異物を洗い流すことができる。なお、電極32を洗浄領域16に突き刺すのは、昇降ステージ50を上下させることで実現でき、洗浄領域16内で若干回転を加えるのは、低速回転モータ38により判別ユニット30を回転させることで実現できる。

[0281] さらに、3つの目の方法としては、図21に示すように、本生体サンプル判別装置内に電極洗浄槽301を設けるようにする方法である。このように、電極洗浄槽301を本装置300内に設け、一連の動作中の判別ユニット30が待機中、あるいは装置300を動作させる毎に電極32を前記電極洗浄槽301上にスライドさせて、電極32を洗浄するようすれば、電極32を洗浄することが可能となり、コンジュゲート精製時に、もしくは装置300保管時に、該電極32に付着したごみ等の異物を洗い流すことができる。

[0282] 以上のように、本実施の形態3においては、電極32a, 32bを電極挿入部111, 112に挿入してコンジュゲート精製する必要がある場合はコンジュゲート精製をしてから次に電極32a, 32bを第1, 第2の電極挿入部111, 112に挿入するまでの間、あるいは、コンジュゲート精製する必要が無い場合は動作開始から電極32a, 32bを第1, 第2の電極挿入部111, 112に挿入するまでの間に、該電極32a, 32bを洗浄液、あるいはプレート上に設けられたフェルト等からなる洗浄領域16で洗浄するようにしたので、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプルを本生体サンプ

ル判別装置において測定する際に、より正確な検出結果を得ることが可能となる。

[0283] (実施の形態4)

以下、図22を用いて、本実施の形態4にかかる生体サンプル判別装置について説明する。

[0284] 前記実施の形態1～3においては、前記光学検出部40を昇降ステージ50上に固定し、昇降ステージ50と一体で移動する構造としたが、本実施の形態4においては、前記光学検出部40の高さを調整する高さ調整機構をさらに設けるようにしたものである。

[0285] 前記各実施の形態では、本生体サンプル判別装置がDNAサンプルのSNPsの有無を判別するものとし、その判別を、光学検出部40において、プレート10に形成された流路パターン110の一部の吸光度、あるいは蛍光度を光学検出部40により検出することで、DNAサンプルがDNAコンジュゲート溶液中を電気泳動する移動状態を検出し、該検出結果に基づいてSNPsの有無を判断するものとした。

[0286] このように、流路パターン110の一部の吸光度、あるいは蛍光度を検出することで生体サンプルの判別を行う場合、前記光学検出部40は、プレート10から常に一定の距離を保つ必要がある。これは、測定する際に検体に対して一定の距離を保って測定しないと、光学検出部40に入光する光の量がばらつき、その結果、検出結果がばらついてしまうからである。

[0287] ここで、前記各実施の形態においては、光学検出部40を昇降ステージ50上に設けることで、プレート10と光学検出部40とが一定の距離を保つよう構成しているが、前記プレート10は、測定時に、ヒータ33が接触したり、電極32が各電極挿入部111，112に挿入される等によって圧力を受けるため、プレート10に微妙なたわみ等が生じて、その位置が変化する可能性がある。

[0288] そこで、このような微妙なたわみ等によるプレート位置の変化に対応するため、本実施の形態4においては、昇降ステージ50上に、プレート10との距離をレーザの反射等により測定する距離測定部42を設け、また、前記光学検出部40に、前記距離測定部42の測定結果に応じて該光学検出部40の高さを調整する高さ調整部41を設けるようにする。

[0289] 前記高さ調整部41としては、アクチュエータが考えられる。例えば、図22(a)に示されるように、マイクロメータ41aを設けたり、また図22(b)に示すように、ボイスコイルモータ41bを設けて、周囲に永久磁石で磁束を発生させ、前記距離測定部42からの測定結果に応じてボイスコイルモータ41bに流す電流の方向を変化させることで該コイル41bを上下に移動させたり、あるいは図22(c)に示すように、圧電素子41cを設け、該圧電素子41cに、前記距離測定部42からの測定結果に応じた電圧を印加して、圧電素子41cを上下に移動させたりすることが考えられる。これにより、光学検出部40とプレート10の位置を微調整し、常に一定距離を保つようにすることができる。

[0290] 以上のように、本実施の形態4によれば、昇降ステージ50に距離測定部42を設け、光学検出部40に、高さを調整する高さ調整部41を設けるようにしたので、前記距離測定部42の測定結果に応じて前記高さ調整部41より、前記プレート10と光学検出部40との距離を常に一定に保つことが可能となり、この結果、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプルを本生体サンプル判別装置において測定する際に、極めて正確な検出結果を得ることが可能となる。

[0291] (実施の形態5)

以下、図23～図27を用いて、生体サンプル判別用プレートについて説明する。

[0292] 図23は、本実施の形態5における生体サンプル判別プレートの構成図であり、図(a)は、プレートの試料注入面、図(b)はプレートの流路形成面である。

[0293] 本実施の形態5におけるプレート10は、厚みが2mmであり、図23に示されるように、その中央に開口部10aが設けられている。そして、プレートの流路パターン形成面には、深さ50  $\mu$  mの溝が掘られており、その溝形成面に厚さ50  $\mu$  mのアクリル製フィルムを接着することで、密閉流路を形成している。本実施の形態5のプレートには、4つ流路パターン110a～110dが形成されており、破線内に示す部分が一検体の分析パターンである。前記密閉流路には、DNAコンジュゲートと、検体であるDNAサンプルが注入され、それらを注入するための注入口が、各流路パターン110a～110dに対して、DNAコンジュゲート溶液の注入部123a～123d、及びDNAサンプルの注入口124a～124dが設けられている。従って、本プレート10では、同時に4つのDNAを分析することが可能である。

[0294] なお、各流路パターン110の詳細については、前記実施の形態1において述べたものと同じであるため、ここでは省略する。

[0295] 図24は、生体サンプル判別用プレートに形成される流路パターンの別の例を示す図である。

[0296] 図24に示す流路パターンは、前記実施の形態1において示した流路パターン110における緩衝液注入部123と、内周流路116aとを削除し、前記実施の形態1の流路パターンでは負電極、正電極を挿入する電極挿入部121, 122を、前記DNAコンジュゲート溶液を注入する緩衝液注入部としても用いるようにしたものである。

[0297] このように構成した場合、前記実施の形態1において流路パターンと同様、より簡単な流路で、精度よく且つ短時間で、DNAサンプルのSNPsの有無を判別することができる。

[0298] また、前記各実施の形態においては、緩衝剤注入部123、内周流路116a、電極挿入部111, 112、外周流路116b、サンプル注入部124、定量部117aを含む第2の流路117、サンプルプール115などを含む流路パターンが、プレート10上の同一表面に形成されているとして記述したが、これらの注入部や流路の内、特に、内周流路116aと、外周流路116bと、定量部117aを含む第2の流路117とが、同一プレートにおいて、プレート10の表と裏とにそれぞれ形成されても良く、また、例えば、サンプル注入部124と、緩衝液注入部114とを別の面に形成するなどしてもよい。このようすれば、サンプルや緩衝剤をプレート10に注入する際に、注入口の判別がしやすくなり、誤って注入することを防止できる。

[0299] 以上のように、本実施の形態5によれば、プレート10上の定量部AによりDNAサンプルを一定量保持し、正電極挿入部112と負電極挿入部121と流路116b、Bによつて電気泳動できるような構成とし、さらには電気泳動する流路116bを円弧状としたことで、細胞や血液等から特定のDNAを取り出したDNAサンプルを本生体サンプル判別プレートにおいて測定する際に、極めて正確な検出結果を得ることが可能となる。

### 産業上の利用可能性

[0300] 本発明の生体サンプル判別装置は、DNAサンプル等の生体サンプルの判別を、

安価で、且つ簡便に行えるようにするものとして有用である。

## 請求の範囲

[1] 緩衝剤が流入される第1の流路と、その流路の一部に、前記第1の流路とその一部の流路を共通とし、一定量の生体サンプルを保持する定量部を含み、該定量部を含む流路に前記生体サンプルが流入される第2の流路と、を有する流路パターンが形成されたプレートを備え、さらに、

該プレートの前記第1の流路に前記緩衝剤を充填させ、前記定量部を含む前記第2の流路に前記生体サンプルを充填させた後、該第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルを残存させて、前記緩衝剤に生体サンプルを一定量だけ添加する充填ユニットと、

前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する判別ユニットと、を備える、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[2] 請求項1に記載の生体サンプル判別装置において、

前記プレートは、前記第1の流路に連通する緩衝剤注入部と、前記第2の流路に連通するサンプル注入部と、前記第2の流路において前記サンプル注入部と連通する空気孔を有しており、

前記充填ユニットは、

前記緩衝剤注入部に前記緩衝剤が注入され、前記サンプル注入部に前記サンプルが注入された前記プレートを回転させ、遠心力により前記緩衝剤注入部内の前記緩衝剤を前記第1の流路に流入させるとともに、前記サンプル注入部内の前記生体サンプルを前記第2の流路中の前記定量部に達しない第1の流入位置まで流入させ、

前記サンプル注入部を加圧して、前記第2の流路中の前記生体サンプルを、前記第1の流入位置から、該第2の流路中の前記定量部を含む第2の流入位置まで流入させた後、

前記プレートを回転させ、遠心力により前記第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルが残るよう、前記第2の流路内の前記生体サンプルを分離する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[3] 請求項1に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記プレートは、前記第1の流路に連通する緩衝剤注入部と、前記第2の流路に連通するサンプル注入部と、前記第2の流路において前記サンプル注入部と連通する空気孔を有しており、  
前記充填ユニットは、  
前記緩衝剤注入部に前記緩衝剤が注入され、前記サンプル注入部に前記サンプルが注入された前記プレートを回転させ、遠心力により前記緩衝剤注入部内の前記緩衝剤を前記第1の流路に流入させるとともに、前記サンプル注入部内の前記生体サンプルを前記第2の流路中の前記定量部に達しない第1の流入位置まで流入させ、  
前記生体サンプルを加圧して、前記第2の流路中の前記生体サンプルを、前記第1の流入位置から、該第2の流路中の前記定量部を含む第2の流入位置まで流入させた後、  
前記空気孔から吸引して、前記定量部に前記一定量の生体サンプルが残るように、前記第2の流路内の生体サンプルを分離する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[4] 請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記充填ユニットは、前記プレートを高速回転させるモータと、  
前記第2の流路を加圧、或いは吸引する圧力操作部とを備える、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[5] 請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記充填ユニットを当該生体サンプル判別装置の下部に、前記判別ユニットを当該装置の上部に設け、  
前記プレートを、前記充填ユニットと前記判別ユニットとの間で上下移動させる昇降ステージを備える、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[6] 請求項5に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記判別ユニットは、当該装置の上部に設けられた天井板に、バネを介して懸架さ

れる、

ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[7] 請求項6に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記第2の流路を加圧、或いは吸引する圧力操作部は、前記天井板にバネを介して懸架される、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[8] 請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記判別ユニットは、前記第1の流路の温度をサーミスタで測定し、該測定結果に応じて該第1の流路を所定の温度になるよう制御するヒータを備え、  
前記第1の流路を前記ヒータで所定の温度にした後、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[9] 請求項8に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記判別ユニットは、前記ヒータ及びサーミスタの代わりに、前記プレートに設けられたヒータ及びサーミスタに、電圧を印加するヒータ接点ピン及びサーミスタ接点ピンを備える、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[10] 請求項8に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記ヒータを、前記第1の流路上に配置し、前記サーミスタを、該ヒータから、前記第1の流路と前記ヒータ間の距離だけ離れた位置に配置する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[11] 請求項8に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記サーミスタを、前記第1の流路上に配置し、前記ヒータを、該サーミスタから、前記第1の流路と前記サーミスタ間の距離だけ離れた位置に配置する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[12] 請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記判別ユニットは、前記プレートに設けられた嵌合ピン孔に挿入される嵌合ピンと、該判別ユニットを低速回転させる低速回転モータと、を備え、

該嵌合ピンで前記プレートを当該判別ユニットに嵌合して固定した後、該判別ユニットと共に前記プレートを前記低速回転モータで低速回転させ、該プレートの低速回転中に、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[13] 請求項12に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記判別ユニットは、前記プレートに設けられた位置決めマークを検出する位置決めマーク検出センサを備え、  
前記低速回転モータで前記プレートを低速回転させて、該位置決めマーク検出センサで前記プレートの嵌合ピン孔を検出して、該プレートの位置決めをした後、該嵌合ピン孔に前記嵌合ピンを挿入する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[14] 請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記判別ユニットは、正電極、負電極を備え、  
前記充填ユニットが前記第2の流路の前記定量部に一定量の生体サンプルが残るよう、前記第2の流路内の前記生体サンプルを分離した後、前記第1の流路中に前記正電極及び負電極を挿入して、該正電極と負電極間に電圧を印加し、前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で電気泳動によって移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[15] 請求項14に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記プレートに、前記正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設け、  
前記充填ユニットが前記第2の流路の前記定量部に一定量の生体サンプルが残るよう、前記第2の流路内の前記生体サンプルを分離した後、前記正電極及び負電極を前記洗浄領域で洗浄し、該正電極及び負電極を前記第1の流路中に挿入する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[16] 請求項14に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記判別ユニットは、前記正電極及び負電極の代わりに、前記プレートに設けられ

た正電極及び負電極に、電圧を印加する2本の電極接点ピンを備える、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[17] 請求項14に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記生体サンプルは、DNAサンプルであり、  
前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含まれる検出対象である目的DNAに水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリマーからなる分離用DNAコンジュゲートと、  
DNA結合制御剤とpH緩衝剤とを含むものである、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[18] 請求項1に記載の生体サンプル判別装置において、  
当該装置内の上昇した温度を冷却する冷却ファンを設け、  
該冷却ファンの空気取り入れ口に、当該装置外部から入射される光を遮断する光遮断部を設ける、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[19] 請求項18に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記光遮断部は、多孔質膜からなる、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[20] 請求項18に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記光遮断部は、L字形状もしくはクランク形状の邪魔板からなる、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[21] 請求項2または請求項3に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記判別ユニットは、前記第1の流路に充填された前記緩衝剤の蛍光度あるいは  
吸光度を検出する光学検出部を備え、  
該光学検出部の検出結果に基づいて、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[22] 請求項21に記載の生体サンプル判別装置において、  
前記光学検出部は、前記プレートを上下移動させる昇降ステージ上に設けられて  
おり、

該昇降ステージ上に、前記プレートと該昇降ステージとの距離を測定し、該測定結果が一定になるよう調整する高さ調整部を備える、  
ことを特徴とする生体サンプル判別装置。

[23] 緩衝剤中を移動する生体サンプルを検出して、生体サンプルを判別する生体サンプル判別方法において、

前記緩衝剤が流入する第1の流路と、その流路の一部に、前記第1の流路の一部その流路を共通にし、一定量の生体サンプルを保持する定量部を含み、該定量部を含む流路に前記生体サンプルが流入される第2の流路と、を有する流路パターンが形成されたプレートを用い、

前記第1の流路に前記緩衝剤を充填させ、

前記定量部を含む第2の流路に前記生体サンプルを充填させた後、

該第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルを残存させて、前記緩衝剤に生体サンプルを一定量だけ添加し、

該一定量の生体サンプルを前記緩衝剤中で移動させ、前記緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する、

ことを特徴とする生体サンプル判別方法。

[24] 請求項23に記載の生体サンプル判別方法において、

前記緩衝剤が注入される前記第1の流路と、前記定量部を含む前記生体サンプルが注入される前記第2の流路と、該第2の流路において前記生体サンプルを注入するサンプル注入部に連通する空気孔と、を有する流路パターンが形成されたプレートを高速回転させて、遠心力により、前記第1の流路に前記緩衝剤を流入させ充填させると共に、該第2の流路中の前記定量部に達しない第1の流入位置まで前記生体サンプルを流入させ、

前記第2の流路のサンプル注入部を加圧して、前記第2の流路中の前記生体サンプルを、前記第1の流入位置から、該第2の流路の前記定量部を含む第2の流入位置まで流入させ充填させた後、

前記プレートを高速回転させ、遠心力により前記第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルが残るように、前記第2の流路内の生体サンプルを分離し、

前記第1の流路を一定温度にした後、

前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別方法。

[25] 請求項23に記載の生体サンプル判別方法において、

前記緩衝剤が注入される前記第1の流路と、前記定量部を含む前記生体サンプルが注入される前記第2の流路と、該第2の流路において前記生体サンプルを注入するサンプル注入部に連通する空気孔と、を有する流路パターンが形成されたプレートを高速回転させて、遠心力により、前記第1の流路に前記緩衝剤を流入させ充填させると共に、該第2の流路中の前記定量部に達しない第1の流入位置まで前記生体サンプルを流入させ、

前記第2の流路のサンプル注入部を加圧して、前記第2の流路中の前記生体サンプルを、前記第1の流入位置から、該第2の流路の前記定量部を含む第2の流入位置まで流入させ充填させた後、

該第2の流路の空気孔から吸引して、前記第2の流路の定量部に一定量の生体サンプルが残るように、前記第2の流路内の生体サンプルを分離し、

前記第1の流路を一定温度にした後、

前記定量部に保持した一定量の生体サンプルを、前記緩衝剤中で移動させ、該緩衝剤中を移動する前記生体サンプルを判別する、

ことを特徴とする生体サンプル判別方法。

[26] 生体サンプルの判別を行なうためのプレートであって、

前記生体サンプルと反応する緩衝剤を当該プレートへ注入するための緩衝剤注入部と、

前記緩衝剤注入部に接続された第1の流路と、

前記生体サンプルを当該プレートへ注入するためのサンプル注入部と、

前記サンプル注入部に接続された第2の流路と、を含むパターン流路を備え、

前記第2の流路は、その流路の一部に前記第1の流路に供給する生体サンプルを一定量保持する定量部を含み、前記第1の流路と前記第2の流路とは前記定量部を

介して接続されている、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[27] 請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1の流路と前記第2の流路とが前記定量部を介して平行に接している、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[28] 請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1の流路中に、正および負の電極部もしくは、正電極、負電極が挿入される  
第1、第2の電極挿入部が設けられている、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[29] 請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記緩衝剤注入部を第1の流路の両端に設け、前記サンプル注入部と連通する空  
気孔を第2の流路に設ける、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[30] 請求項26に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記緩衝剤注入部に前記緩衝剤を注入し、前記サンプル注入部に前記生体サン  
プルを注入した後、  
第1の工程において、前記緩衝剤注入部より注入された緩衝剤が第1の流路に充  
填され、  
第2の工程において、前記サンプル注入部より注入された生体サンプルが前記定  
量部を含む第2の流路に充填された後、

第3の工程において、前記第2の流路内の前記生体サンプルを分離して、前記生  
体サンプルを定量部に一定量残存させ、

第4の工程において、該残存させた一定量の生体サンプルを前記第1の流路の緩  
衝剤中で移動させる、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[31] 請求項30に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1の工程が、加圧、吸引もしくは毛細管現象により、前記緩衝剤を前記第1  
の流路へ充填するものである、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[32] 請求項30に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第2の工程が、加圧、吸引もしくは毛細管現象により、前記生体サンプルを前  
記定量部を含む前記第2の流路に充填するものである、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[33] 緩衝剤中を移動する生体サンプルを検出して、生体サンプルを判別する生体サン  
プル判別用プレートであつて、  
前記緩衝剤がその一部に注入され、当該プレートを高速回転させると該緩衝剤が  
充填される第1の流路と、  
その流路の一部に、前記第1の流路とその流路の一部を共通とし、一定量の前記  
生体サンプルを保持する定量部を含み、当該プレートを高速回転させると前記生体  
サンプルが前記定量部に達しない第1の流入位置まで流入され、当該プレートを加  
圧させると、該第2の流路中の生体サンプルが前記第1の流入位置から前記定量部  
を含む第2の流入位置まで流入される第2の流路と、を有する流路パターンを備える  
、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[34] 請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1の流路の一部に、負電極、正電極が挿入される第1、第2の電極挿入部を  
備える、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[35] 請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1の流路は、当該生体サンプル判別用プレートの中心を円心とした円の円  
周方向に伸びる弧状流路の内周側である内周流路と、外周側にある外周流路と、該  
内周流路と外周流路のそれぞれの両端を接続する前記円心から放射方向に伸びる  
放射流路とで周回形状を有する流路からなり、  
前記第2の流路は、前記内周流路と前記外周流路間に位置する前記弧状流路と、  
その弧状流路一部に設けられたコの字形状の流路と、からなり、  
前記定量部は、前記外周流路の一部と、前記第2の流路の前記コの字形状を有す

る流路の一部とが平行に接してなる、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[36] 請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記緩衝剤が注入され、第1の流路に連通する前記緩衝剤注入部が、前記第1の  
流路の内周側に位置する、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[37] 請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記生体サンプルが注入され、前記第2の流路に連通するサンプル注入部が、前  
記第2の流路の内周側に位置する、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[38] 請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1、第2の電極挿入部は、前記第1の流路の前記放射流路の一部に設けら  
れる、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[39] 請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1の流路の前記内周流路のほぼ中央に、前記緩衝剤を注入する緩衝剤注  
入部を設ける、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[40] 請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記緩衝剤を第1の流路に充填させた際、該緩衝剤は、前記第1の流路のうちの、  
前記外周流路及び前記第1、第2の電極挿入部に充填される、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[41] 請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記内周流路の前記弧状流路は、該流路が円弧上から前記外周流路側にすこし  
ずれた檐円円弧上にある、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[42] 請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記内周流路の流路幅は、前記外周流路の流路幅より広い、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[43] 請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記外周流路は、前記第1の電極挿入部から前記定量部までの流路の長さと、前  
記第2の電極挿入部から該定量部までの流路の長さとの差を調整する流路長調整  
部を有する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[44] 請求項35に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第2の流路の一端に、前記生体サンプルを注入するサンプル注入部を設け、  
そのもう一端に、前記第2の流路に前記生体サンプルを充填する際に、前記サンプ  
ル注入部から注入された前記生体サンプルを保持するサンプルプールを設ける、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[45] 請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1の流路の上部に、該第1の流路を加熱するヒータ及び該第1の流路の温  
度を測定するサーミスタを設け、  
前記第1、第2の電極挿入部中に、正電極及び負電極を設ける、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[46] 請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記第1、第2の電極挿入部は、空気孔を有する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[47] 請求項44に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記サンプルプールは、空気孔を有する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[48] 請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、  
前記生体サンプルはDNAサンプルであり、前記緩衝剤は、該DNAサンプルに含  
まれる検出対象である目的DNAに、水素結合可能な塩基配列を結合したリニアポリ  
マーからなる分離用DNAコンジュゲートと、DNA結合制御剤とpH緩衝剤とを含むも  
のである、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[49] 請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1、第2の電極挿入部に、前記正電極、負電極を挿入するための電極挿入口を設け、  
該電極挿入口には、カバーフィルムを貼る、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[50] 請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、当該生体サンプル判別用プレート上に、前記流路パターンを複数個形成する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[51] 請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、当該生体サンプル判別用プレートに、前記正電極、負電極を洗浄する洗浄領域を設け、  
前記正電極、負電極を前記洗浄領域で洗浄した後、該正電極と負電極を前記第1の流路に挿入する、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[52] 請求項28または請求項34に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記緩衝剤注入部を前記第1の流路の両端に設け、該緩衝剤注入部を前記電極部もしくは前記電極挿入部としても用いる、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[53] 請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路及び前記第2の流路が、前記プレート表面に形成された溝と、前記プレート表面を覆うフィルムとによって形成されている、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

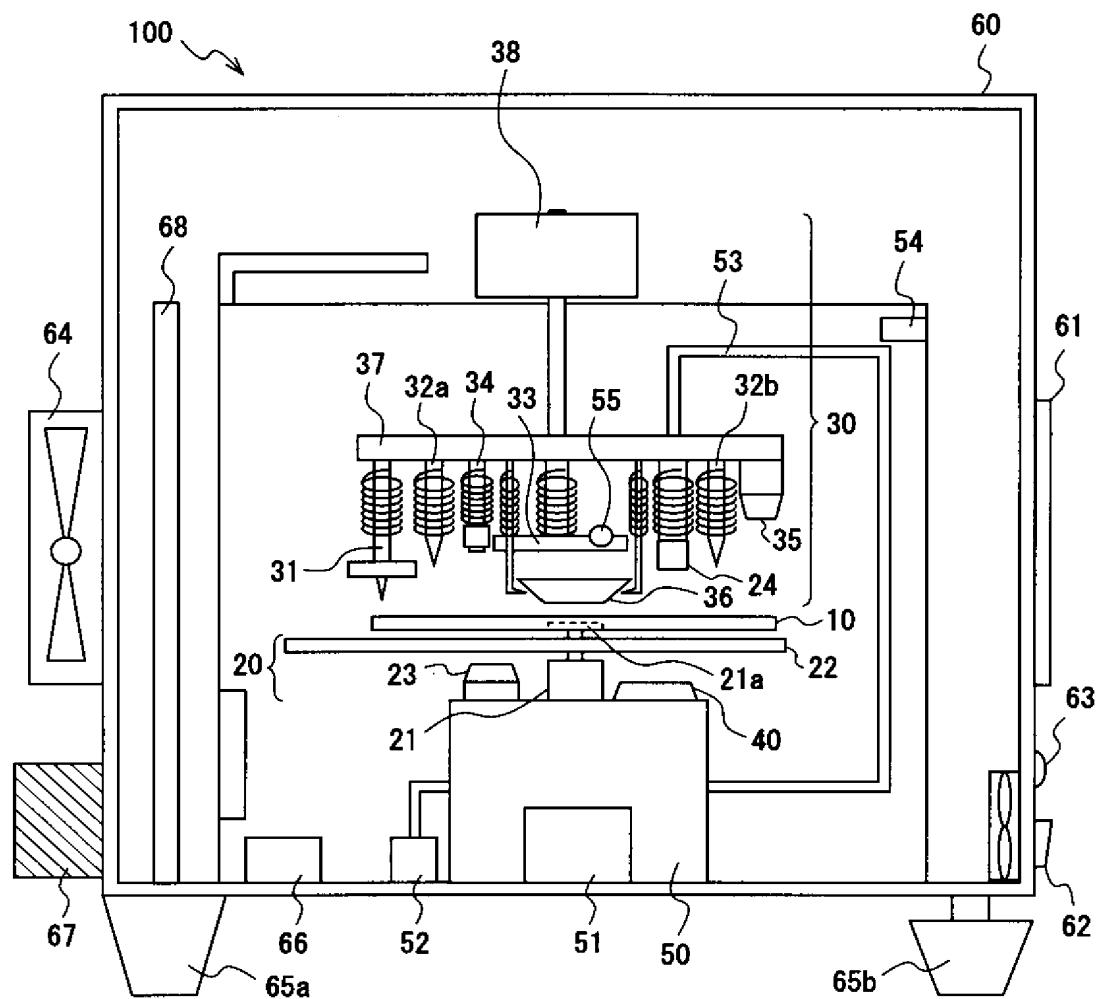
[54] 請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路及び前記第2の流路が、前記プレートの同一表面に形成されている、  
ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

[55] 請求項26または請求項33に記載の生体サンプル判別用プレートにおいて、前記第1の流路と前記第2の流路とが、前記プレートの異なる表面に形成されてい

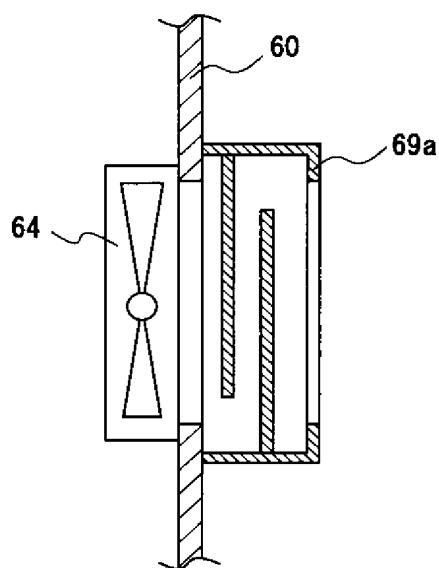
る、

ことを特徴とする生体サンプル判別用プレート。

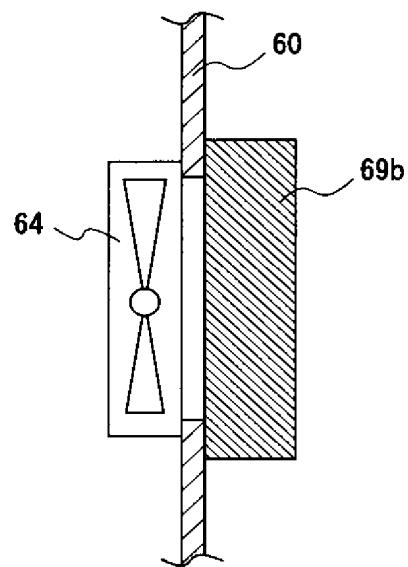
[図1]



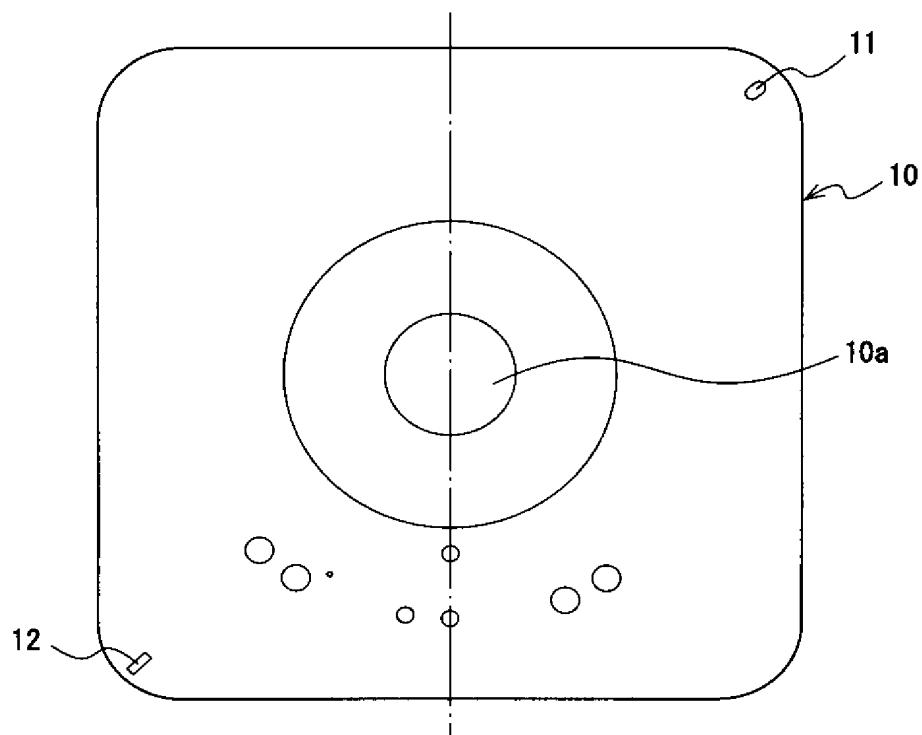
[図2(a)]



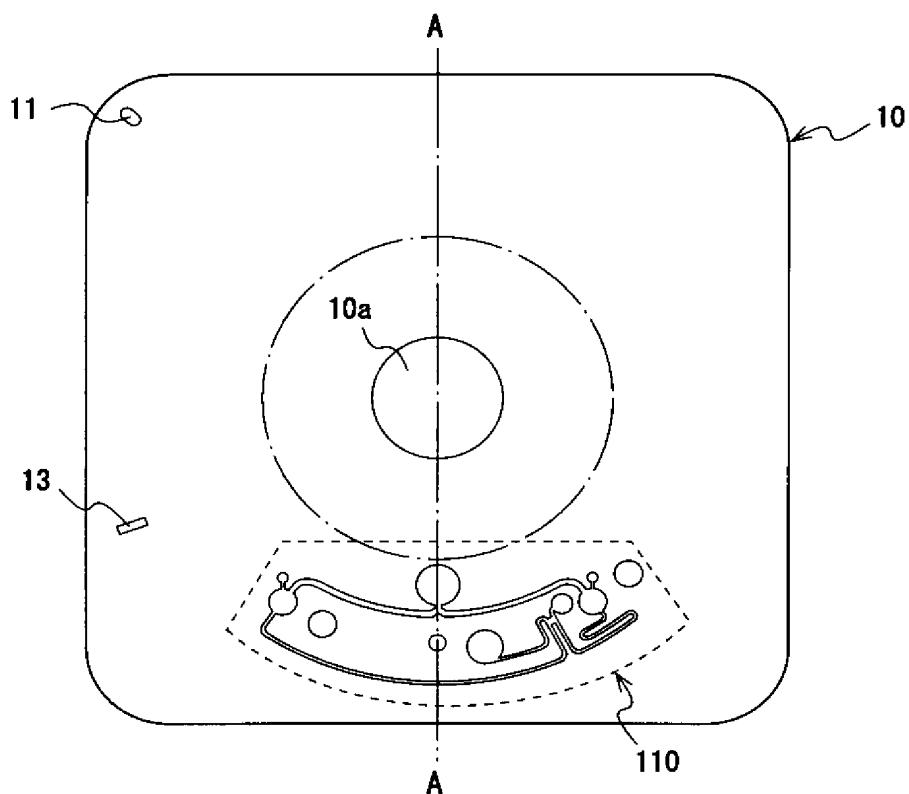
[図2(b)]



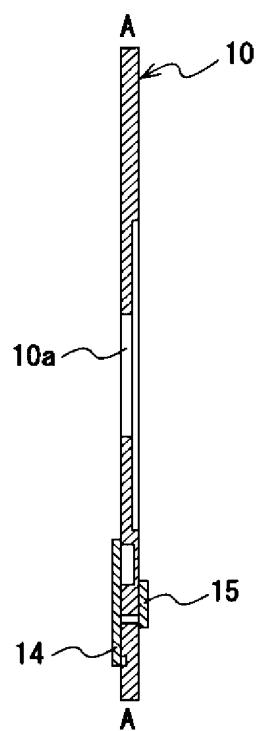
[図3(a)]



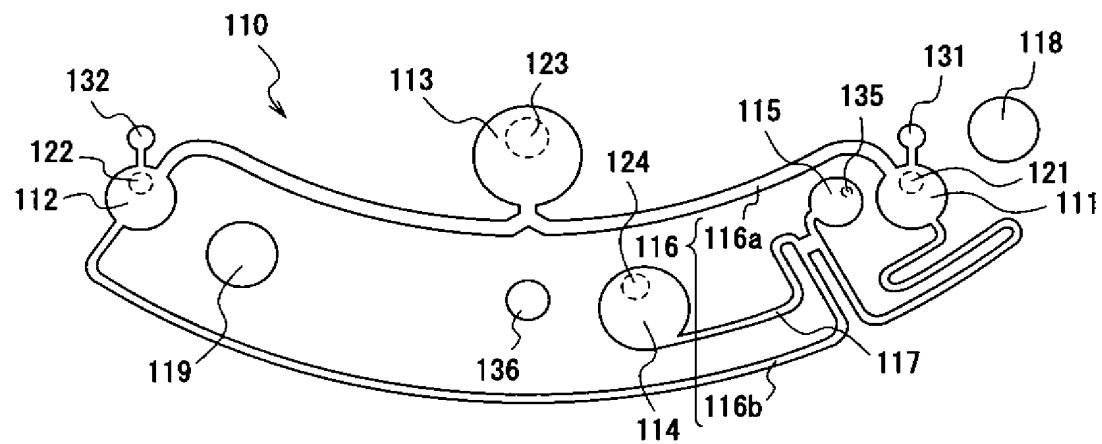
[図3(b)]



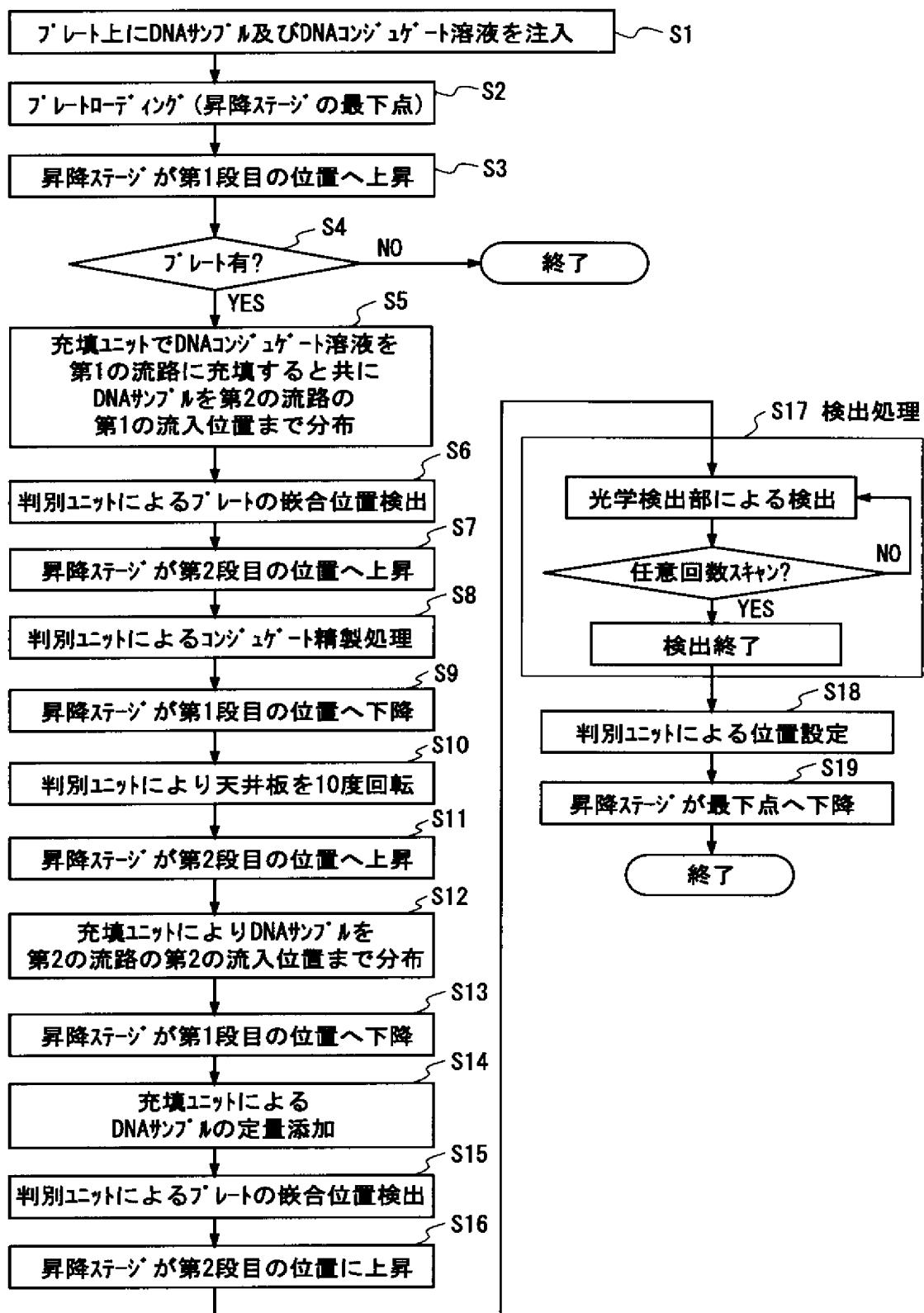
[図3(c)]



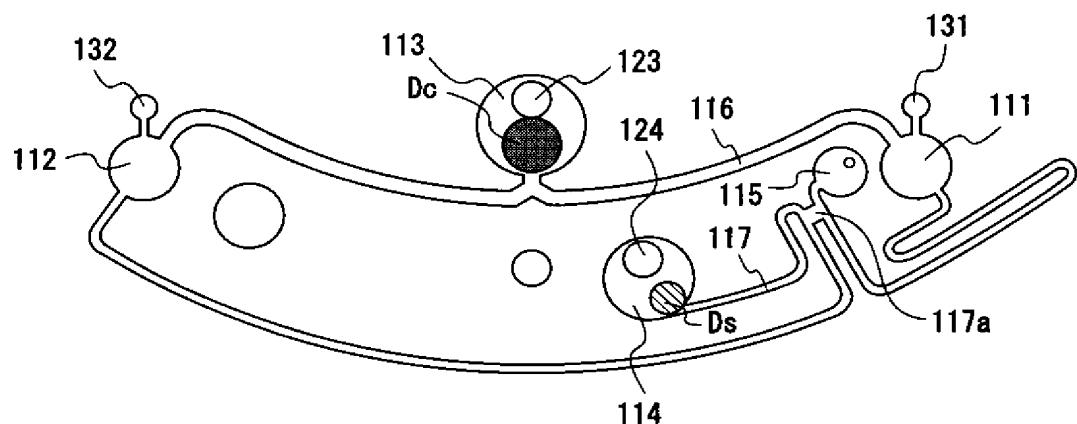
[図4]



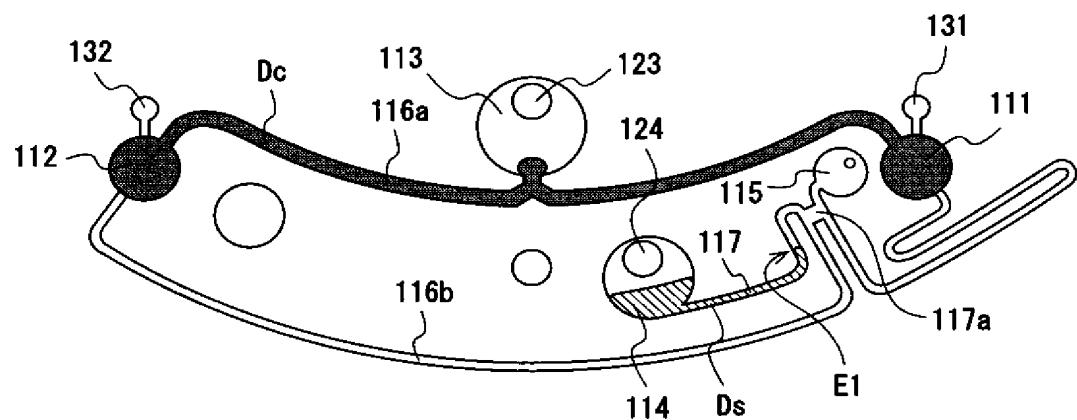
[ 5]



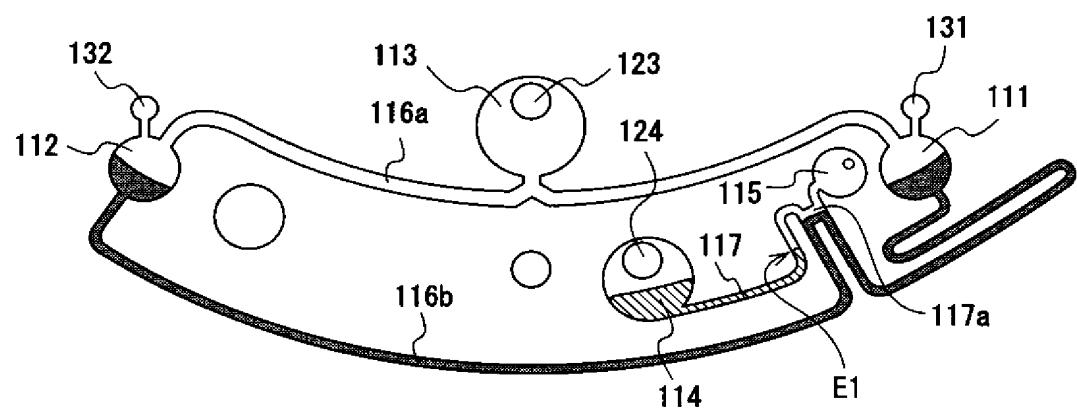
[図6(a)]



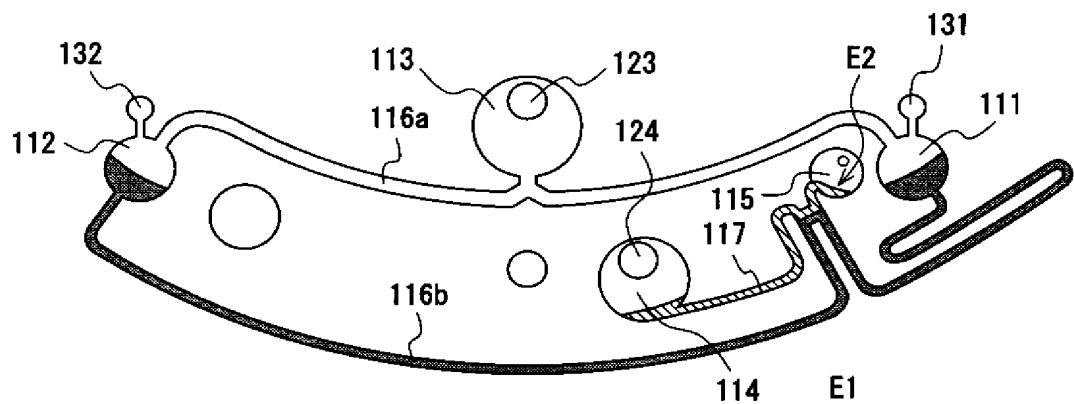
[図6(b)]



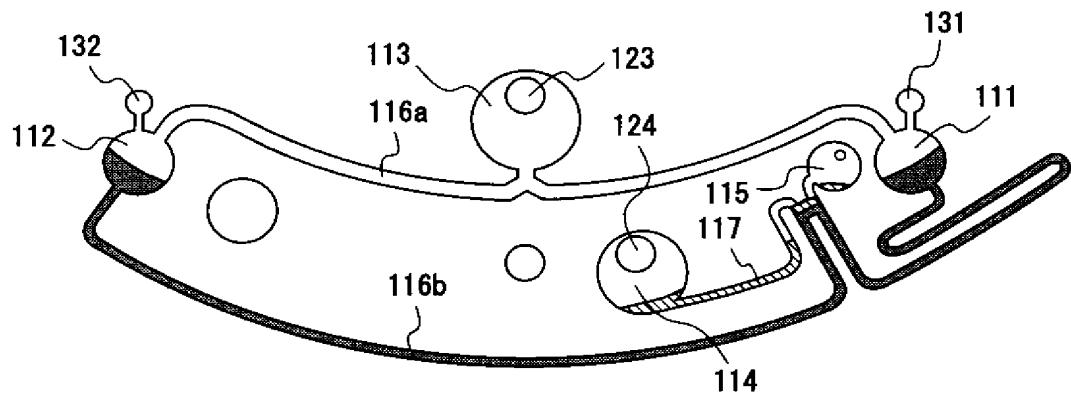
[図6(c)]



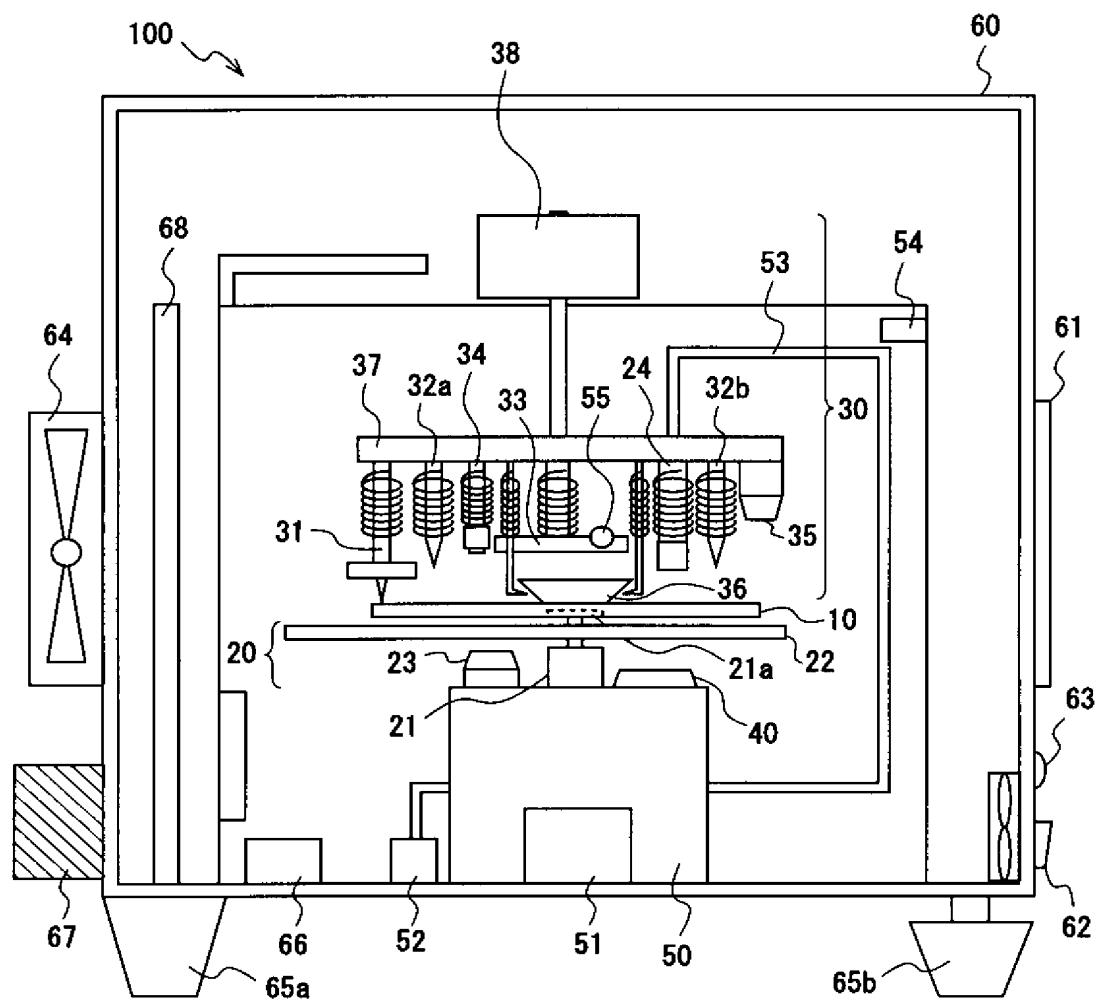
[図6(d)]



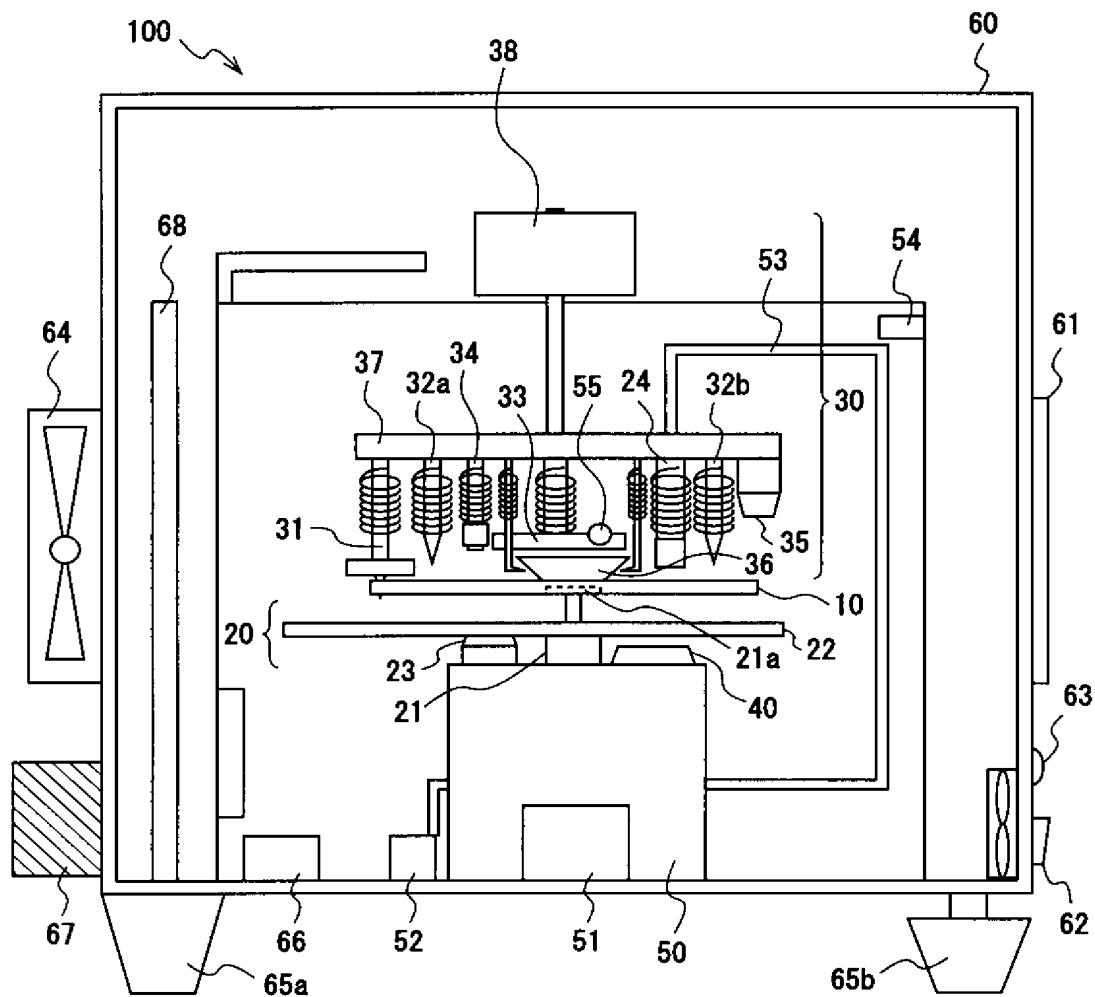
[図6(e)]



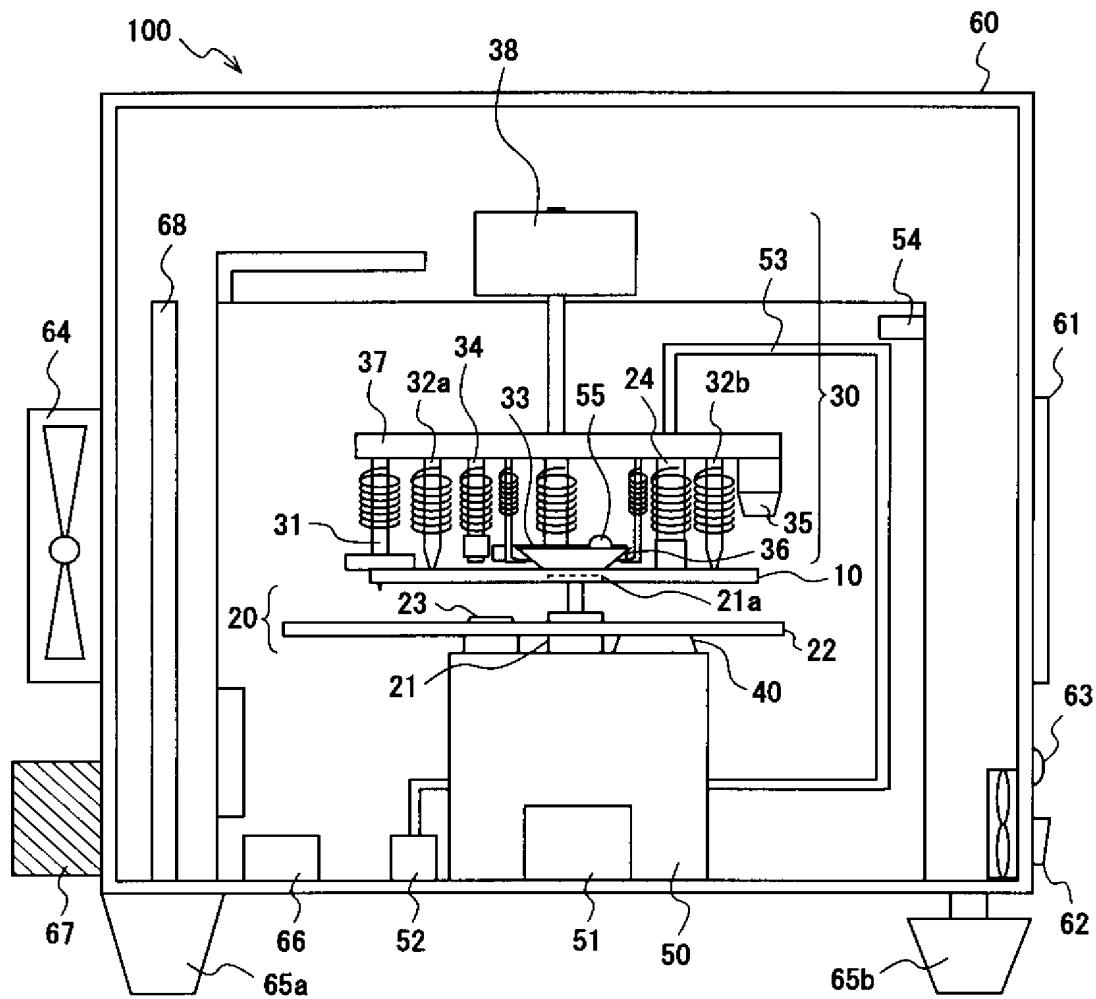
[図7(a)]



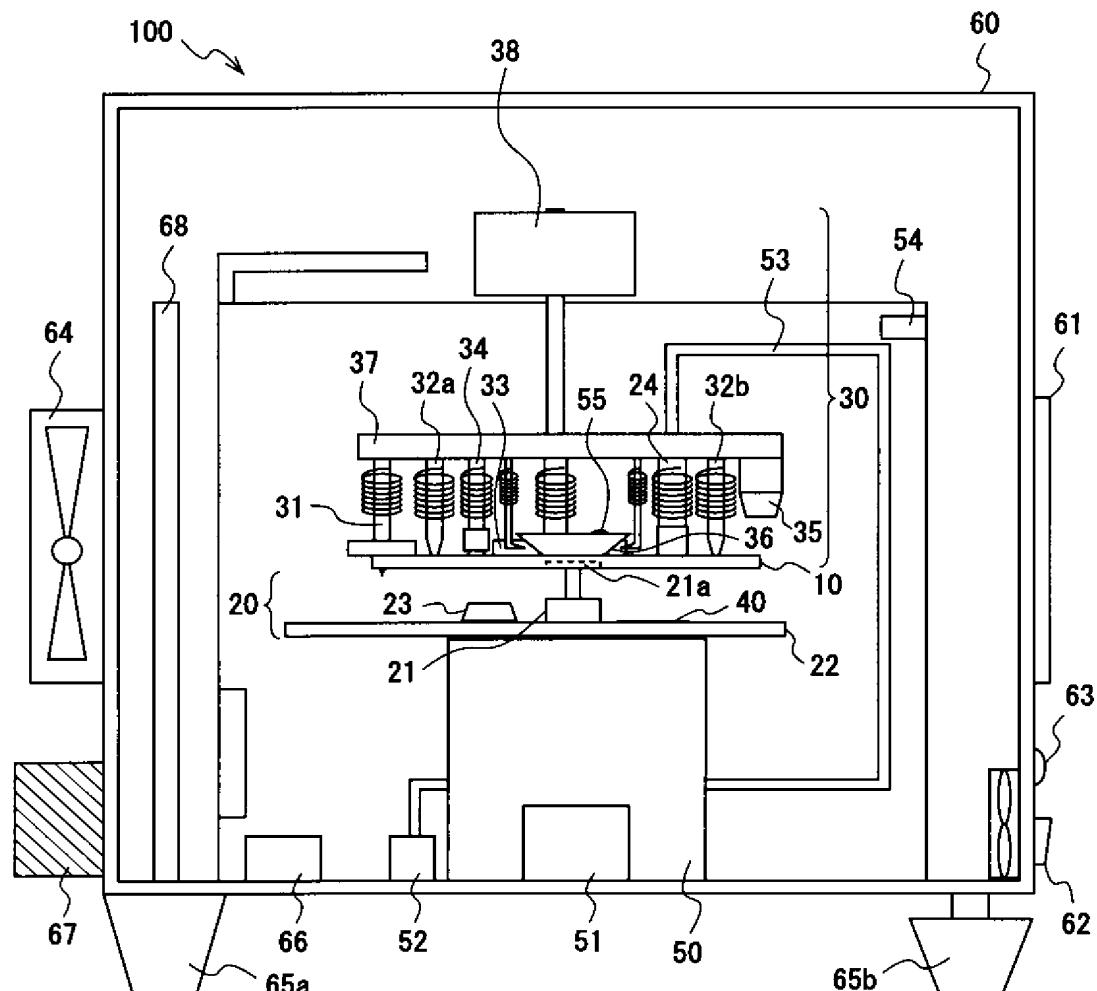
[図7(b)]



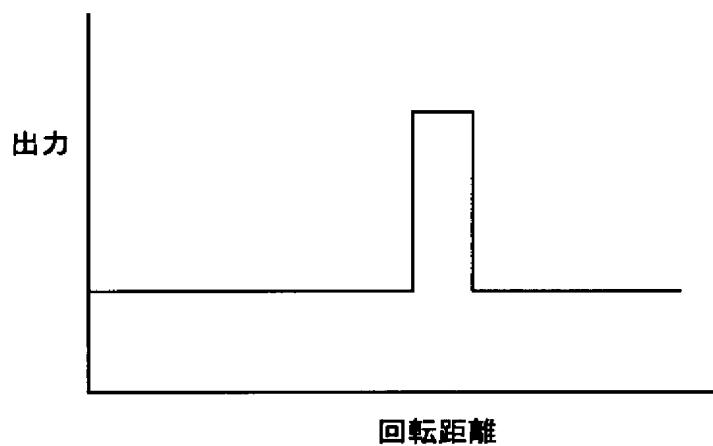
[図7(c)]



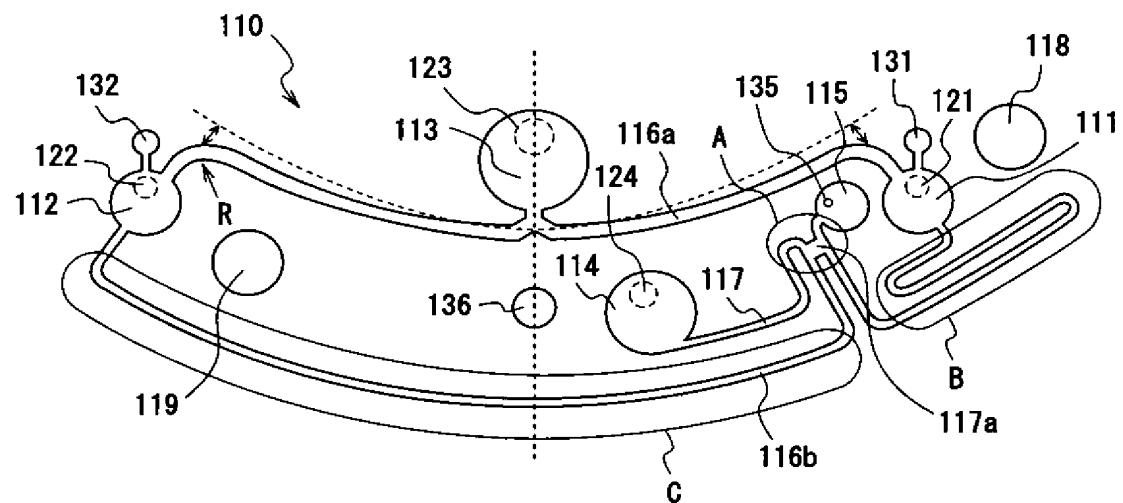
[図7(d)]



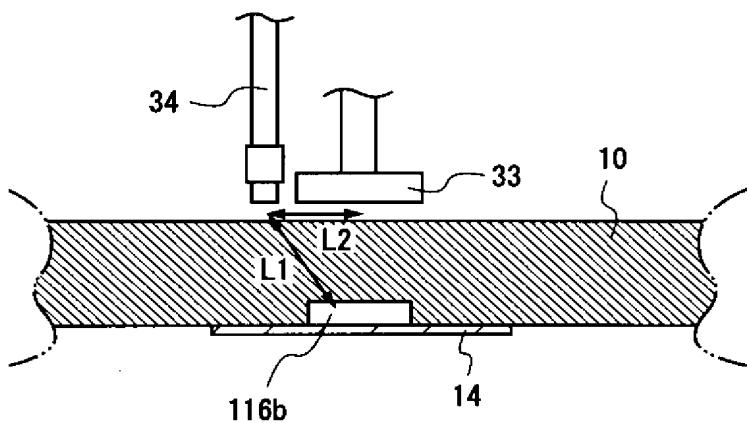
[义8]



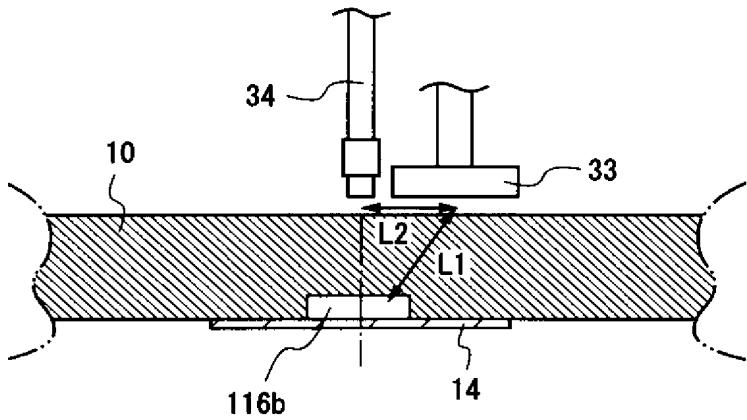
[図9]



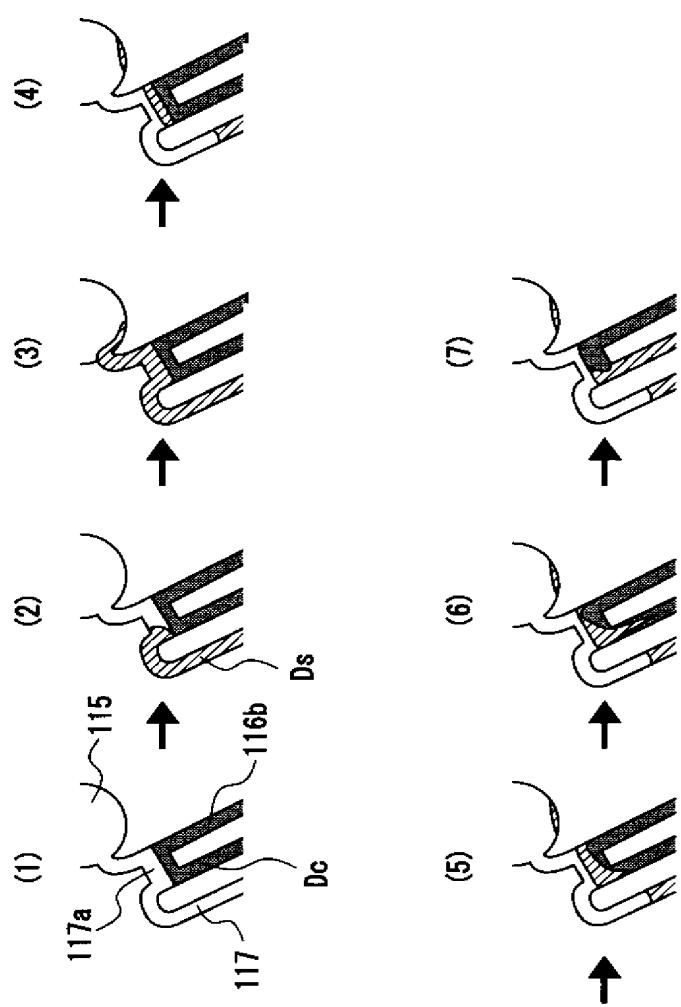
[図10(a)]



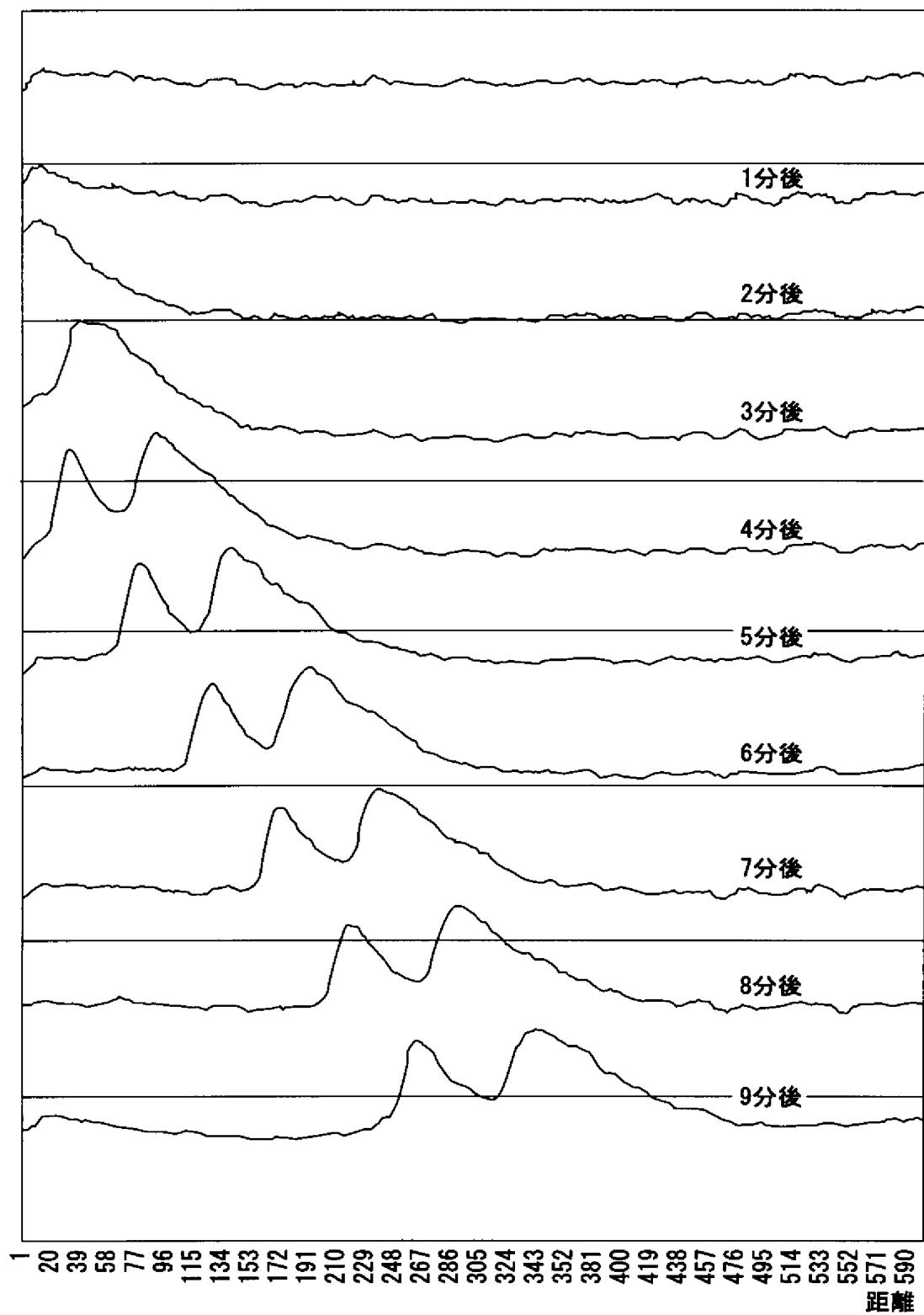
[図10(b)]



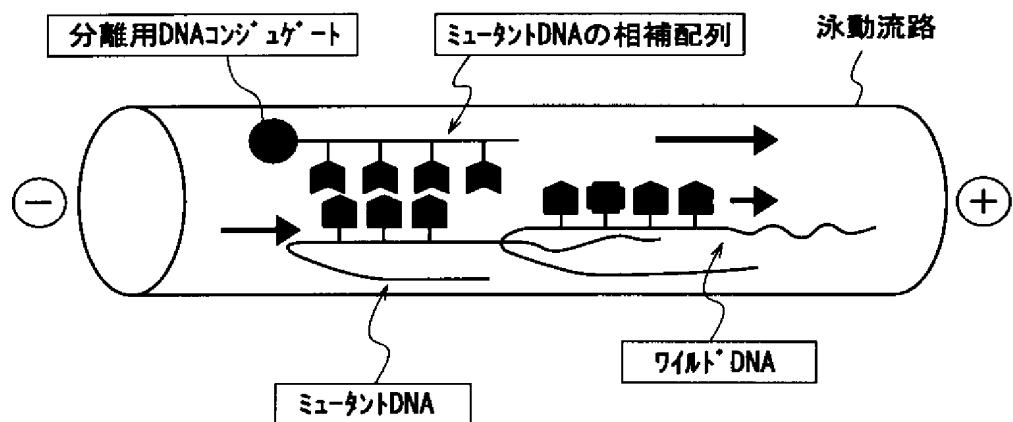
[図11]



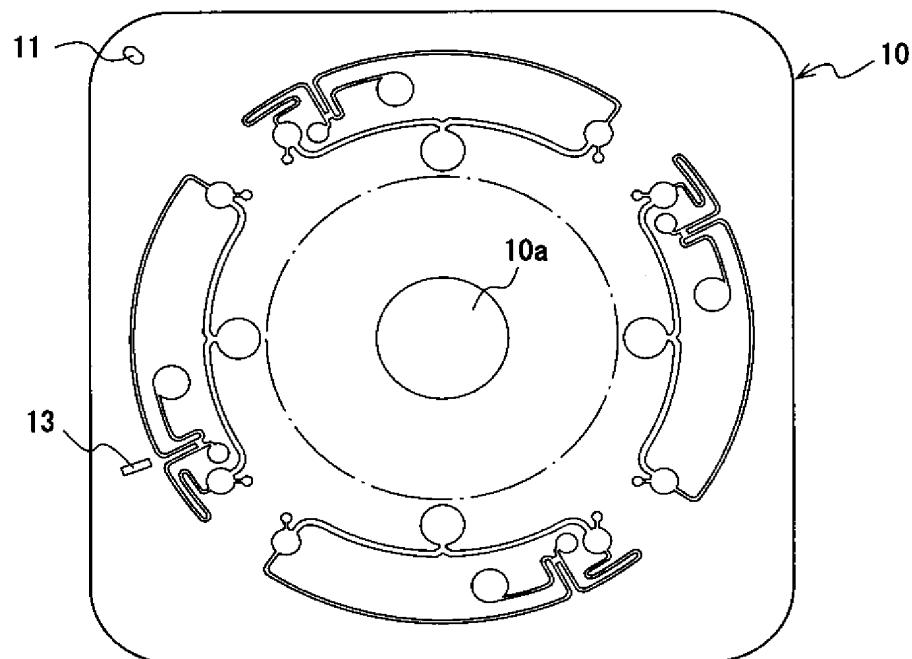
[図12]



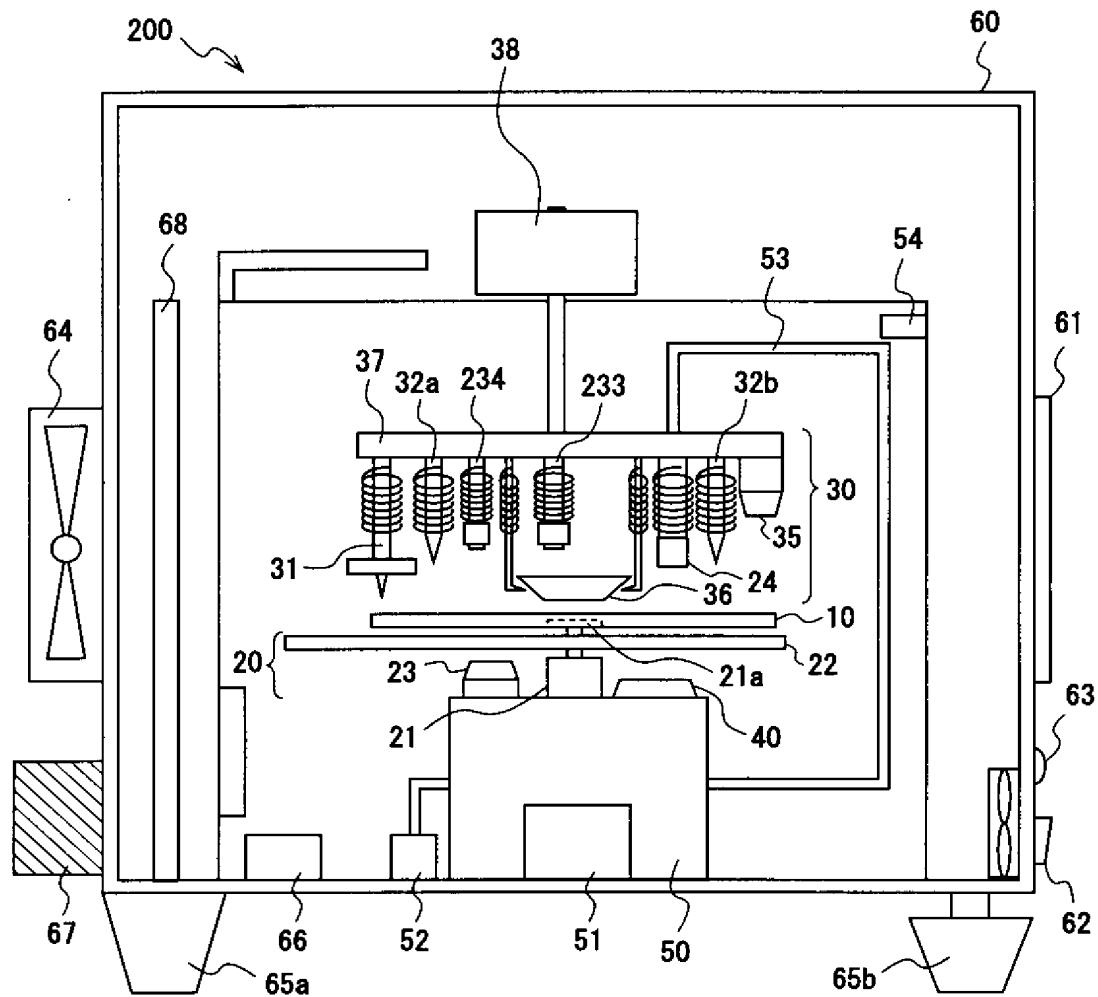
[図13]



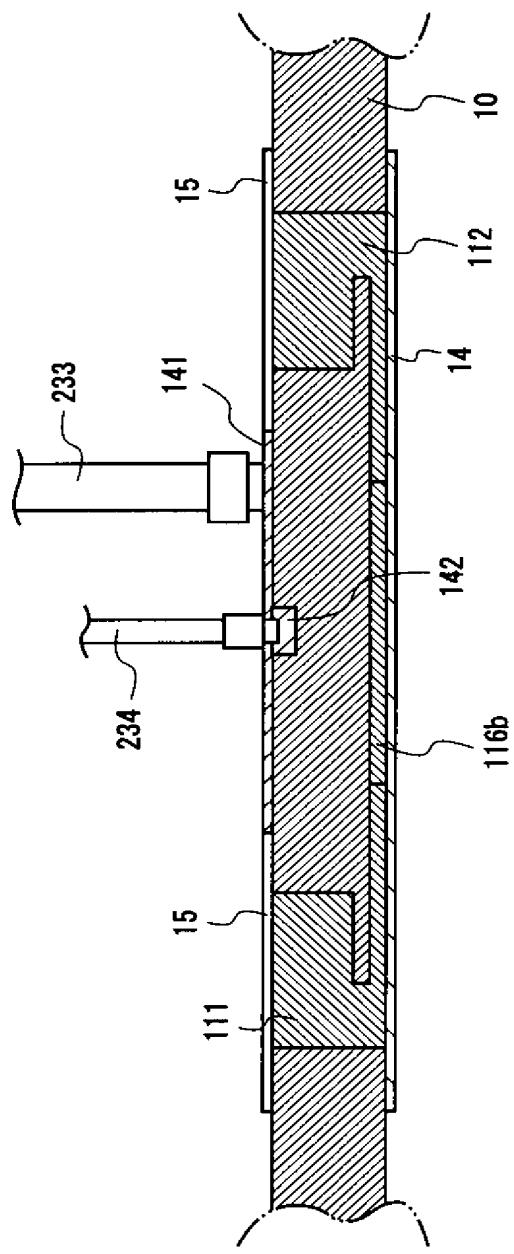
[図14]



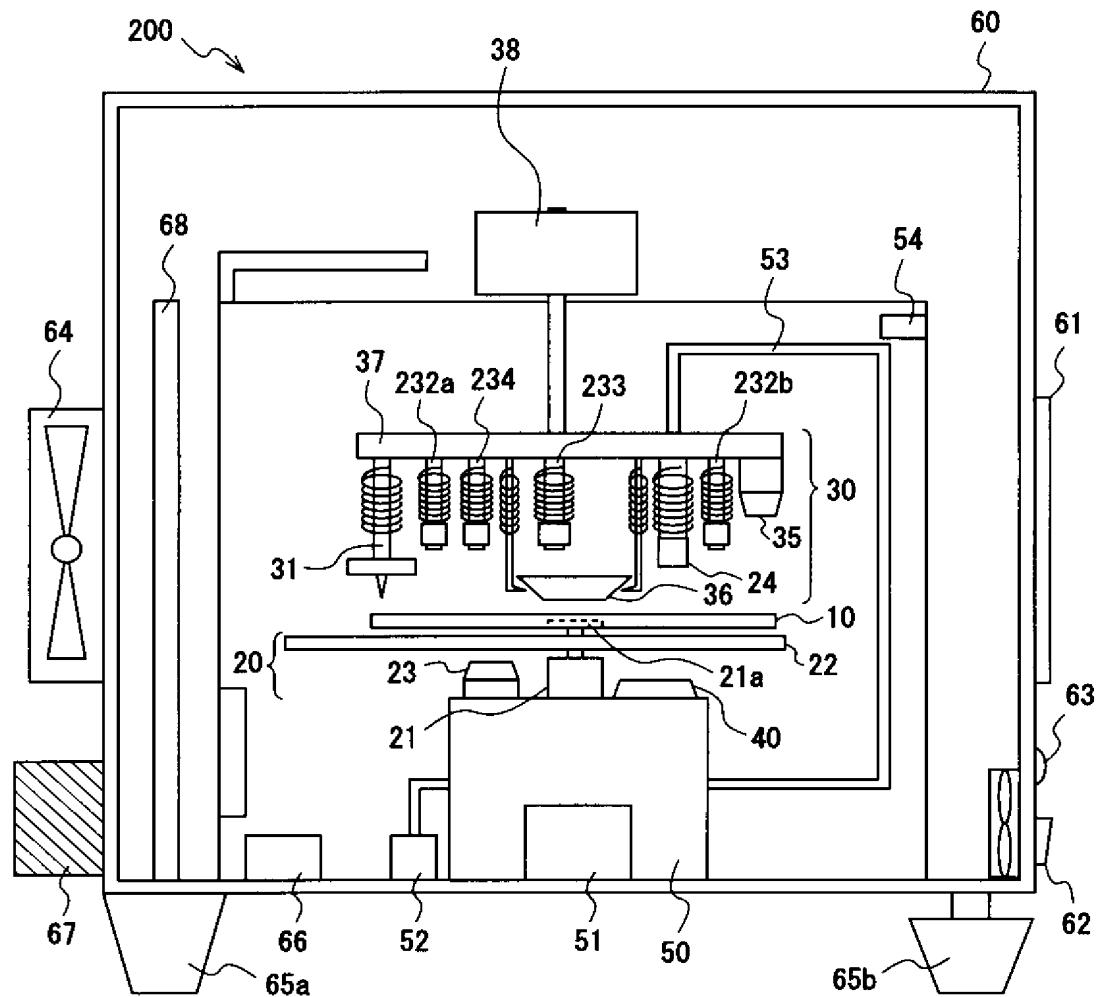
[図15]



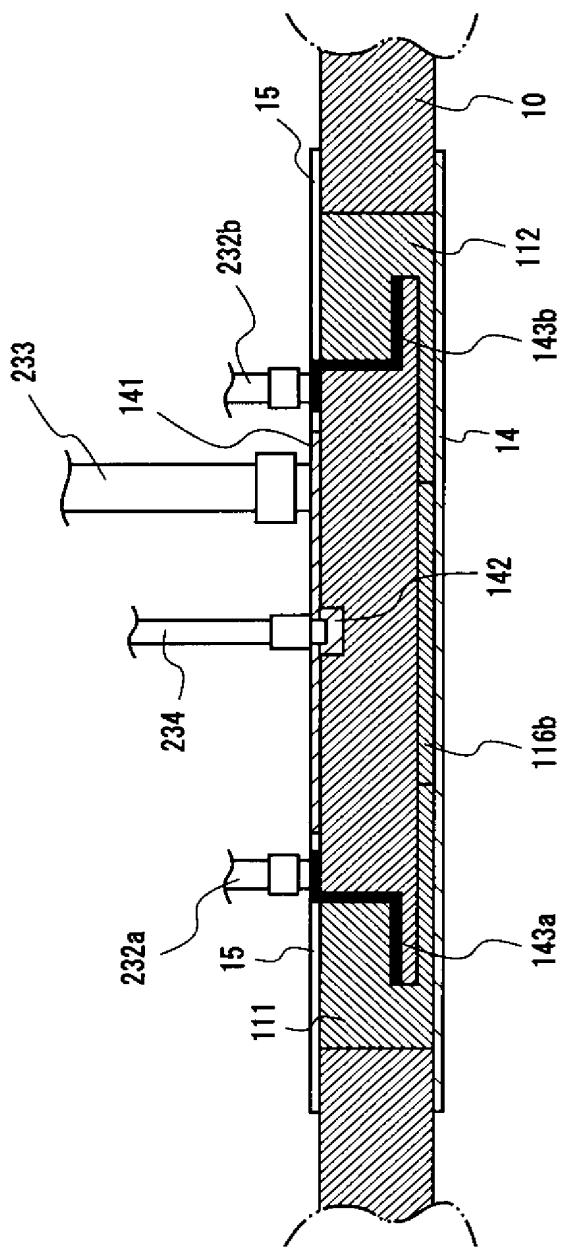
[図16]



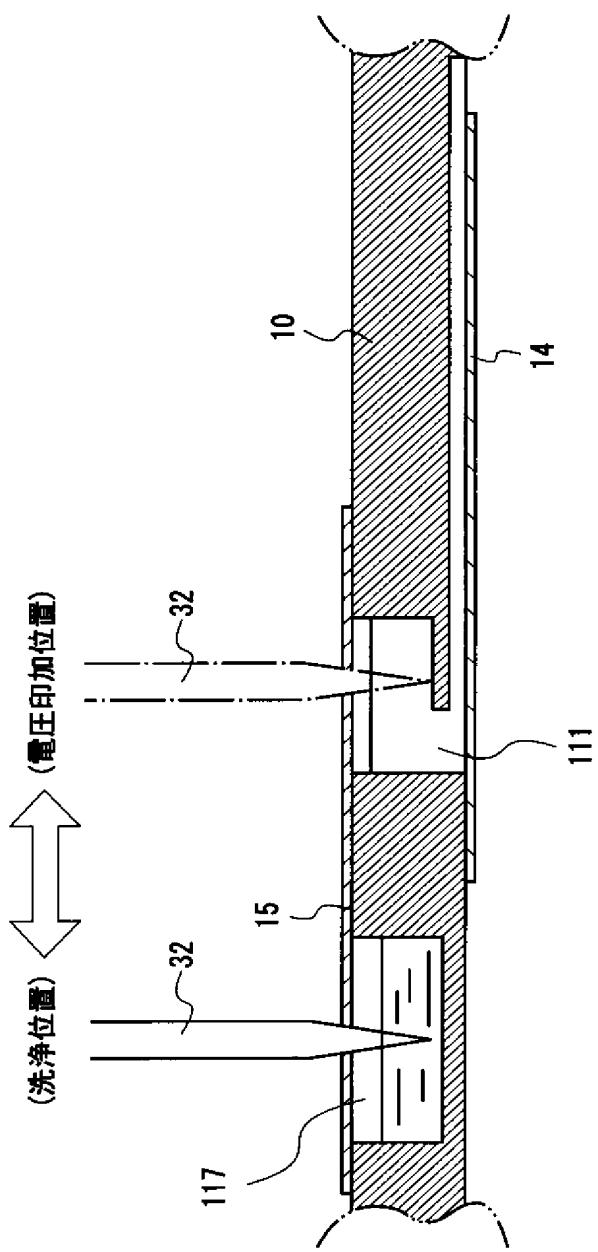
[図17]



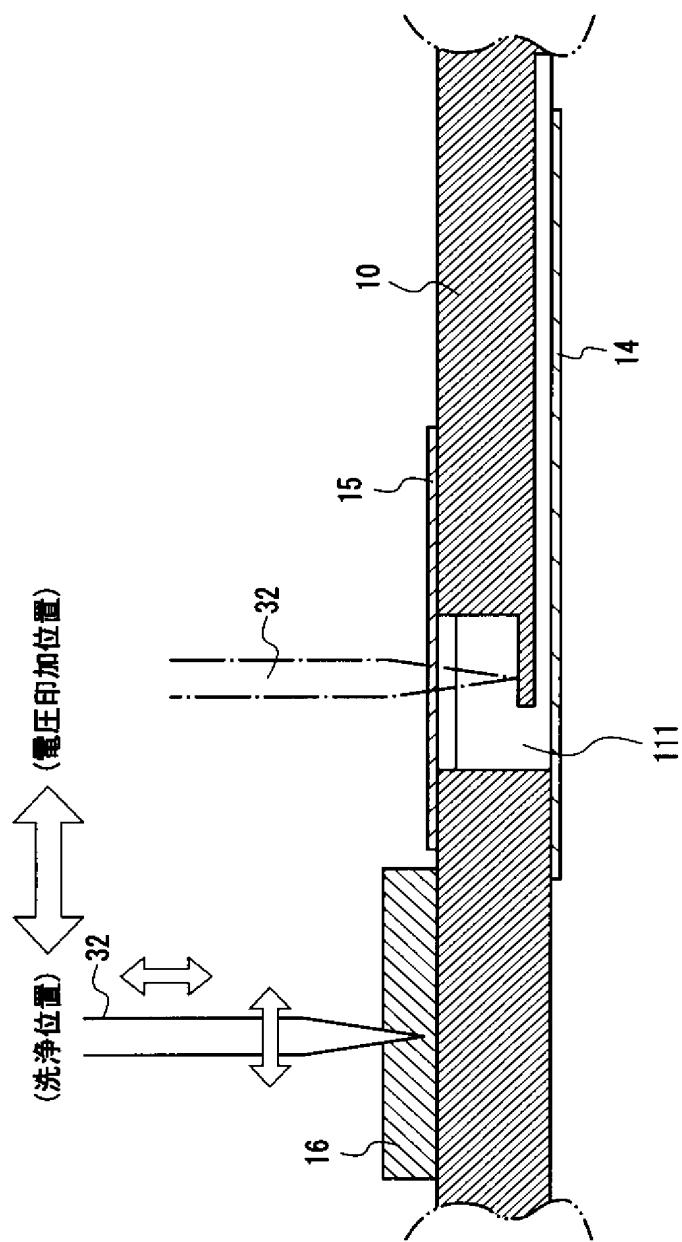
[図18]



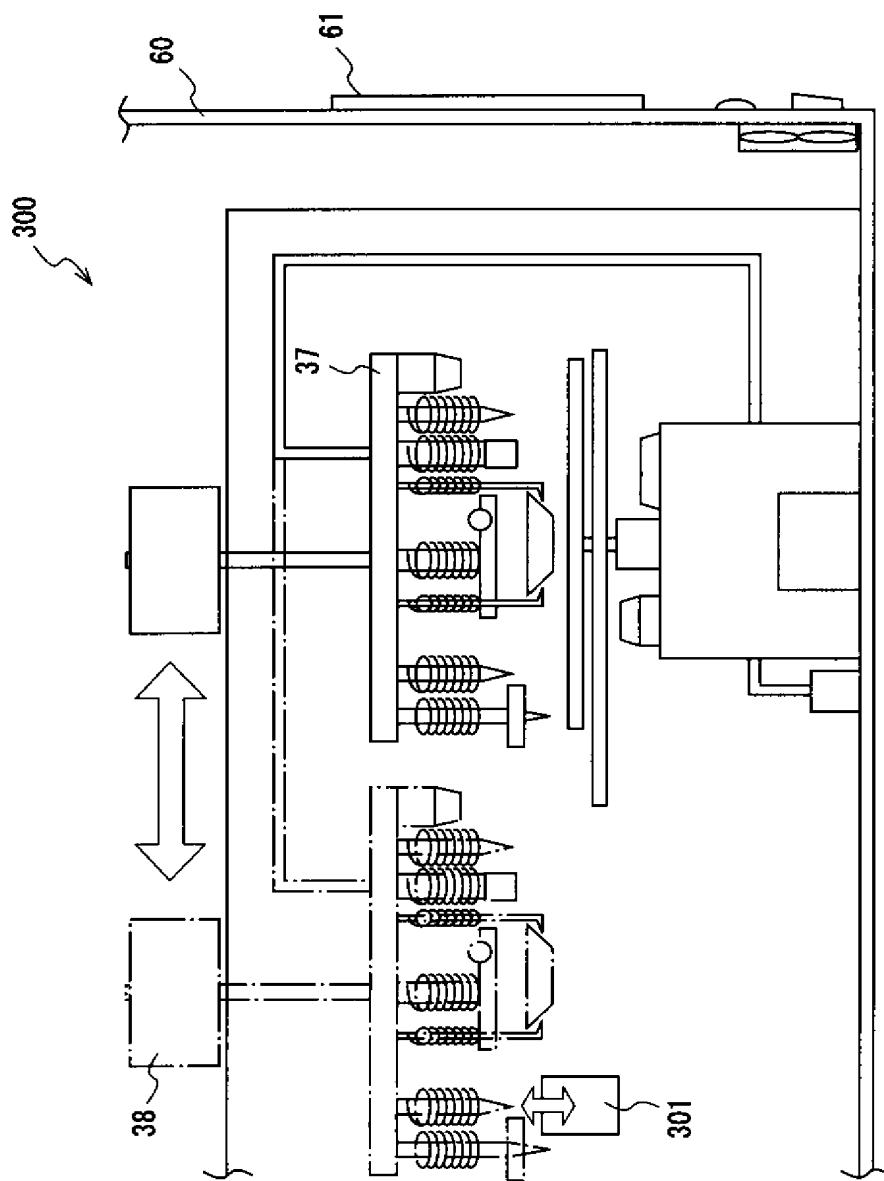
[図19]



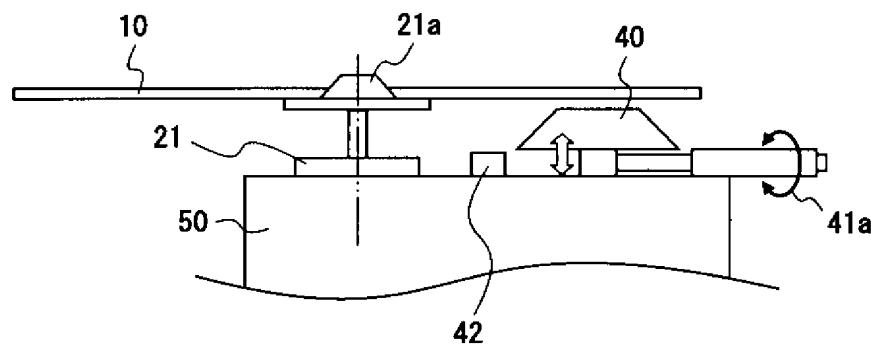
[図20]



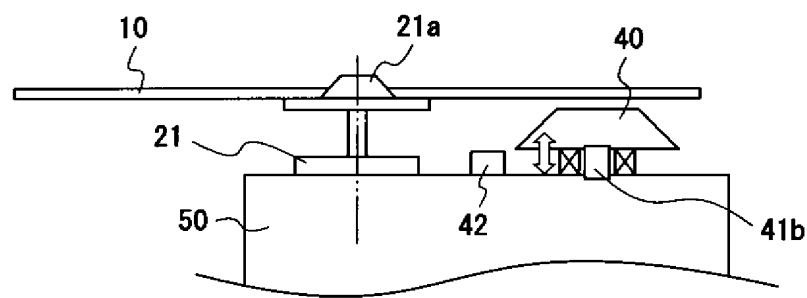
[図21]



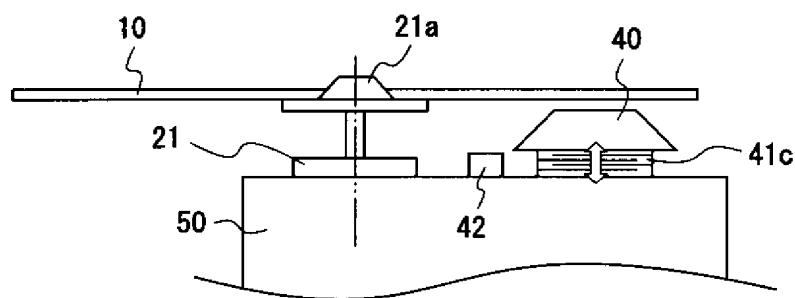
[図22(a)]



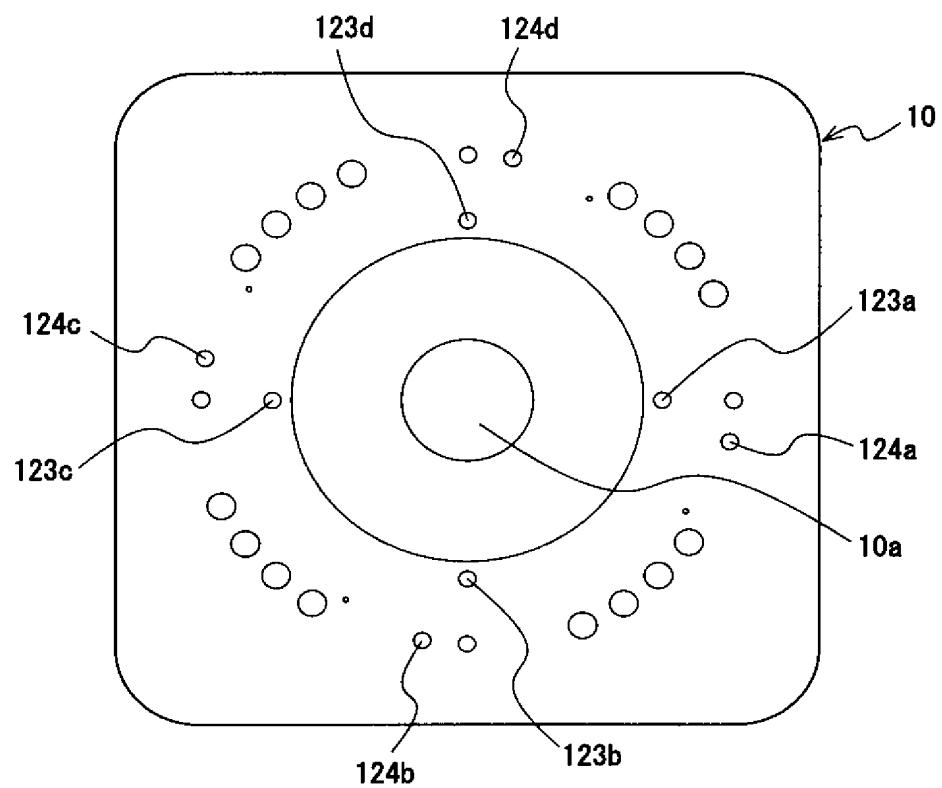
[図22(b)]



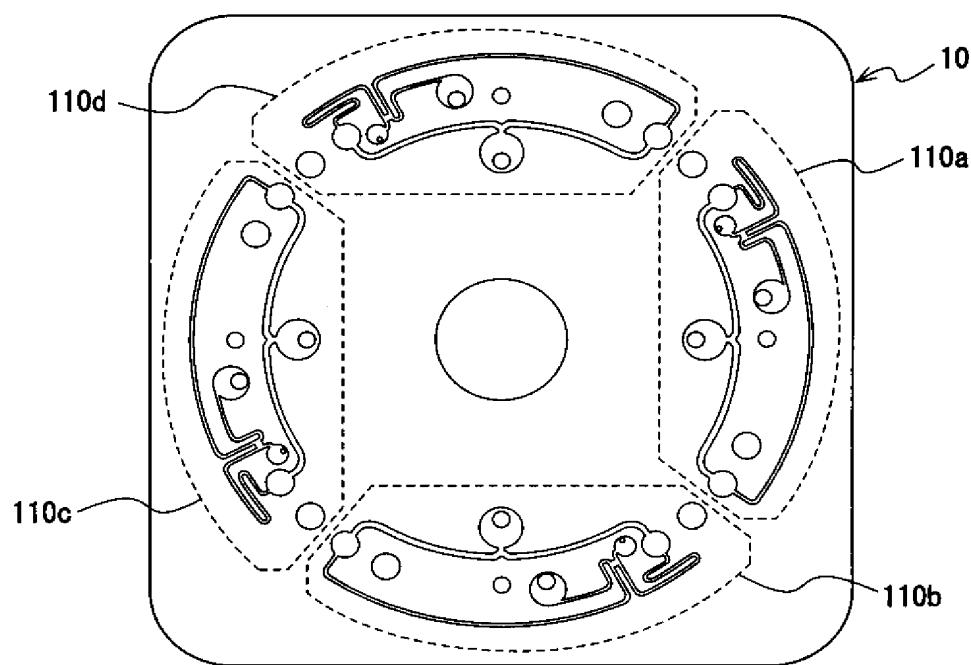
[図22(c)]



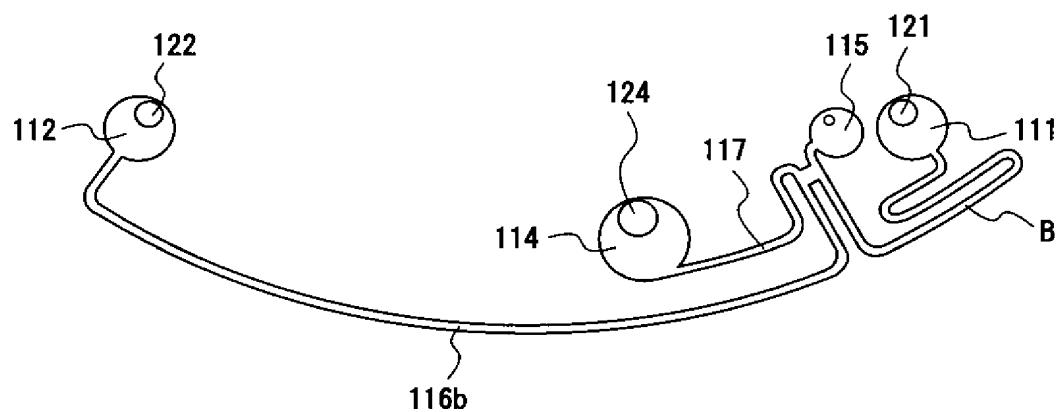
[図23(a)]



[図23(b)]



[図24]



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/019508

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> G01N33/561, C12M1/00, C12N15/09, C12Q1/68, G01N27/447, 33/53, 37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> G01N33/48-37/00, C12M1/00-1/42, C12N15/00-15/90, C12Q1/68, G01N27/26-27/49

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST FILE (JOIS), WPI/L (QUESTEL)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2003-504637 A (PE Corp. (NY)), 04 February, 2003 (04.02.03), Par. Nos. [0037] to [0039]; Figs. 1 to 11 & WO 2001/006228 A & AU 773950 B & EP 1204861 A & US 6660147 B1	1, 18-20, 23, 26-32, 45, 46, 48-55
X	JP 6-66769 A (Hitachi, Ltd.), 11 March, 1994 (11.03.94), Full text; Figs. 1 to 6 (Family: none)	1, 18-20, 23, 26-32, 45, 46, 48-55
A	JP 2002-340859 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 27 November, 2002 (27.11.02), Full text; Figs. 1 to 8 (Family: none)	1-55

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search  
21 April, 2005 (21.04.05)

Date of mailing of the international search report  
17 May, 2005 (17.05.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2004/019508

**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2002/010732 A1 (CALIPER TECHNOLOGIES CORP.), 07 February, 2002 (07.02.02), Full text; Figs. 1 to 6 & US 2002033337 A & AU 200180951 A & EP 1314024 A & CN 1455864 A & JP 2004505275 W	1-55
A	JP 2000-314719 A (Shimadzu Corp.), 14 November, 2000 (14.11.00), Full text; Figs. 1 to 3 (Family: none)	1-55

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/561, C12M1/00, C12N15/09, C12Q1/68, G01N27/447, 33/53, 37/00

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/48-37/00, C12M1/00-1/42, C12N15/00-15/90, C12Q1/68, G01N27/26-27/49.

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICST ファイル(JOIS), WPI/L(QUESTEL)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2003-504637 A (ピーイー コーポレイション (エヌワイ)) 2003. 02. 04, 【0037】 - 【0039】、図 1-11 & WO 2001/006228 A & AU 773950 B & EP 1204861 A & US 6660147 B1	1, 18-20, 23, 26-32, 45, 46, 48-55
X	JP 6-66769 A (株式会社日立製作所) 1994. 03. 11, 全文、図 1-6 (ファミリーなし)	1, 18-20, 23, 26-32, 45, 46, 48-55
A	JP 2002-340859 A (松下電器産業株式会社) 2002. 11. 27, 全文、 図 1-8 (ファミリーなし)	1-55

 C欄の続きにも文献が列挙されている。

〔〕 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

21. 04. 2005

## 国際調査報告の発送日

17. 5. 2005

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官 (権限のある職員)

2 J 9116

高見 重雄

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 2002/010732 A1 (CALIPER TECHNOLOGIES CORP.) 2002. 02. 07, 全文、図 1-6 & US 2002033337 A & AU 200180951 A & EP 1314024 A & CN 1455864 A & JP 2004505275 W	1-55
A	JP 2000-314719 A (株式会社島津製作所) 2000. 11. 14, 全文、 図 1-3 (ファミリーなし)	1-55